

**TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI**

**FAKULTA PŘÍRODOVĚDNĚ – HUMANITNÍ A PEDAGOGICKÁ**

---

KATEDRA	CHEMIE
STUDIJNÍ PROGRAM	M 7503, UČITELSTVÍ PRO 2. STUPEŇ ZÁKLADNÍ ŠKOLY
KOMBINACE	CHEMIE – Ceský jazyk a literatura

**IZOLACE A ANALÝZA ARBUTIN**

**ISOLATION AND ANALYSIS FROM THE ARBUTINE**

**Diplomová práce:** 03 – FP-KCH – 009

**Autor:**

Monika Pavlíková

**Podpis:**

.....

**Adresa:**

Chlumětín 22

592 02, Svratka

**Vedoucí práce:** Mgr. Irena Horská, Ph.D

**Konzultant:** Ing. Jana Müllerová, Ph.D

**Počet**

stran	slov	obrázků	tabulek	pramenů	příloh
93	15693	38	6	22	6

V Liberci dne 25. 5. 2009

## **MÍSTOPŘÍSEŽNÉ PROHLÁŠENÍ**

„Místopřísežně prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury.“

V Liberci, dne 25.5. 2009

## **DECLARATION ON WORD OF HONOUR**

„I declare in place of oath that I elaborated this diploma thesis independently using mentioned resources.“

In Liberec, date 25.5. 2009

.....

Monika Pavlíková

## **PROHLÁŠENÍ**

Byla jsem seznámena s tím, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Diplomovou práci jsem vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím diplomové práce a konzultantem.

## **DECLARATION**

I was instructed about copyright of my diploma thesis, which relates to the law num. 121/2000 Sb., mainly § 60 – School Publication.

I acknowledge that Technical University of Liberec (TUL) does not intervene in my copyright using my diploma thesis for internal needs only.

Using my diploma thesis or licence for its usage, I am obliged to inform TUL in advance.

This way, TUL has the right to charge me for all the costs needed for realization of my work to full extent.

I elaborated my diploma thesis independently using mentioned resources and on the basis of advice given by the supervisor of my diploma thesis and the consultee.

**Autor:**

Monika Pavlíková

V Liberci dne: 25.5.2009

**Podpis:**

.....

## **PODĚKOVÁNÍ**

**Vážená paní doktorko,**

**Děkuji Vám za obrovskou trpělivost, podporu a pomoc při realizaci mé diplomové práce**

**a děkuji Vám za důvěru, kterou jste do mě vložila. Pokusím se Vás nezklamat !**

**Zároveň děkuji paní doktorce Janě Müllerové, jenž mi vždy dokázala ochotně poradit a pomoci s problémy, se kterými jsem se ve své práci setkala**

**Děkuji také svým rodičům a přátelům, neboť bez jejich podpory a lásky bych práci nikdy nedokončila.**



## IZOLACE A ANALÝZA ARBUTIN

Monika Pavlíková

Mgr. Irena Horská, PhD.

### **Anotace:**

Diplomová práce se zabývá izolací a analýzou arbutinu. Cílem práce byla extrakce a identifikace arbutinu z vybraných rostlinných zdrojů ( brusnice borůvka, medvědice lékařská, vřes obecný). Získané extrakty byly dále analyzovány pomocí chromatografie ( tenká vrstva) a následně pomocí IČ spektrofotometrie. Byl ověřen antibakteriální ( bakteriocidní a bakteriostatický) účinek arbutinu. V neposlední řadě byl zkoumán i bělící účinek této látky.

### **Das Resümee**

Die Diplomarbeit behandelt die Izolation und die Analyse von Arbutin. Das Ziel der Arbeit war die Extraktion und die Identifikation von Arbutin aus den ausgewählten pflanzlichen Ressourcen (Preiselbeere, Heidelbeere, Heidekraut). Die erworbenen Extrakten wurde weiter mit Hilfe von Chromatografie ( dünne Schicht) und nachfolgend mit Hilfe von IČ Spektrofomektrie analysiert. Es wurde die antibakterielle Wirkung von Arbutin ( bakteriell und bakterienstatisch) überprüft. Und es wurde nicht zuletzt die Bleichwirkung von diesem Stoff untersucht.

### **Summary**

The diploma thesis refers to isolation and analysis of arbutine. The aim was extraction and identification of arbutine from the chosen herbal (vegetal, botanical) resources (blueberry, Arctostaphylos Uva ursi, heather). The obtained extracts were analyzed by chromatography (thin layer) and consequently by infrared spectroscopy. There was proved the antibacterial effect of arbutine. The whitening effect was examined as well.

## Obsah

1	Arbutin .....	10
1.1	Princip působení arbutinu – bělicí účinek .....	13
1.1.1	Melanogeneze .....	14
2	Vepřová kůže vs. lidská kůže .....	15
3	Rostlinné drogy .....	16
3.1	Složky rostlin obecně: .....	16
4	Kůže .....	19
4.1	Stavba a struktura kůže .....	19
4.2	Barva kůže .....	20
5	Kožní problémy .....	21
5.1	Hyperpigmentace pokožky .....	21
5.1.1	Hyperchromní skvrny .....	22
5.1.2	Hyperchromní plochy .....	22
6	Bělicí látky .....	23
6.1	Obecné rozdělení .....	23
6.2	Nejznámější bělicí látky pro odstranění pigmentových skvrn .....	23
7	Baktericidní účinnost arbutinu .....	26
8	Chemická podstata arbutinu .....	27
8.1	Obecná charakteristika .....	27
9	Glykosidy v rostlinné říši .....	28
9.1	Chemická podstata glykosidů .....	28
9.1.1	Třídění glykosidů .....	28
9.2	Rostlinné glykosidy .....	29
9.3	Fenolové glykosidy .....	30
10	Rostliny obsahující arbutin .....	31
10.1	Medvědice lékařská .....	31
10.2	Brusnice borůvka ( <i>Vaccinium myrtillus</i> L.) .....	33
	.....	33
10.2.1	Výskyt: .....	34
10.3	Vřes obecný .....	34
10.3.1	Antidiuretické a další účinky vřesu .....	35

11	Extrakční a separační metody .....	36
11.1	Extrakce.....	36
11.2	Destilace .....	37
11.3	Chromatografie .....	38
11.3.1	Sloupcová chromatografie.....	38
11.3.2	Chromatografie v plošném uspořádání .....	39
11.3.3	Papírová chromatografie .....	40
11.3.4	Detekce .....	40
11.3.5	Hodnoty RF .....	41
12	IČ SPEKTROFOTOMETRIE.....	43
12.1	IR spektrofotometrie .....	43
12.1.1	Infračervený spektrometr.....	44
12.1.2	Závislost na experimentálních podmínkách .....	44
12.1.3	Informace vyplývající z IČ spektra o struktuře látky.....	45
12.1.4	Vlnočty charakteristických vibrací některých důležitých vazeb a skupin .....	45
13	Antimikrobiální účinky arbutinu .....	46
13.1	Bakterie.....	46
13.1.1	Gramnegativní a grampozitivní bakterie .....	48
14	ESCHERICHIA COLI.....	50
14.1	Antigenní struktury .....	51
14.2	Patogenita.....	51
14.2.1	Enteropatogenní E. coli - EPEC .....	52
14.2.2	Enterotoxigenní E. coli – ETEC .....	52
14.2.3	Enteroinvasivní E. coli – EIEC.....	53
14.2.4	Enterohemoragické E. coli – EHEC.....	53
14.2.5	Léčba .....	53
15	STAPHYLOCOCCUS AUREUS .....	54
15.1	Patogenita.....	55
15.2	Onemocnění .....	56
15.3	Léčba.....	56
15.4	Antibakteriální látky .....	57

15.4.1	Antibiotika .....	58
15.4.2	Mechanismus účinku – popis .....	59
15.5	Peniciliny.....	60
15.5.1	Mechanismus účinku.....	60
16	Tkaniny, použité pro testování .....	62
16.1	Bavlna.....	62
16.1.1	Složení bavlněného vlákna .....	62
16.1.2	Vlastnosti .....	63
16.2	Viskóza .....	64
16.2.1	Výroba: .....	64
16.2.2	Postup výroby (ve zkratce):.....	65
16.2.3	Vlastnosti .....	65
16.2.4	Použití .....	66
16.3	Vlna .....	66
16.3.1	Morfologie vlny.....	67
16.3.2	Nečistoty ve vlně.....	68
16.3.3	Vlastnosti vlny .....	68
16.3.4	Chemické složení vlny .....	68
16.4	Porovnání některých fyzikálně- chemických vlastností vlny, viskózy a bavlny.....	69
III.	PRAKTICKÁ ČÁST .....	70
17	SOXHLETOVA EXTRAKCE .....	70
17.1	Extrakce rostlinných vzorků .....	70
18	Prostá destilace.....	70
19	FILTRACE.....	71
19.1	Filtrace přes vápenný filtr.....	72
19.2	Odpaření přebytečných látek.....	72
20	IČ SPEKTROFOTOMETRIE.....	72
21	CHROMATOGRRAFIE .....	73
21.1	Příprava vzorku .....	73
21.2	Chromatografie .....	73
21.3	Detekce.....	74

22	Prokázání bakteriostatického účinku arbutinu .....	75
22.1	Hodnotící metody .....	75
	1% roztok arbutinu .....	76
	5% roztok arbutinu .....	77
23	Bělicí účinek arbutinu .....	82
24	Závěr.....	84

## Úvod:

Arbutin je přírodně se vyskytující glykosid hydrochinonu, obvykle s methylarbutinem. Tato látka se používá jako součást přípravků tradiční emdicínný s antibakteriálními účinky. Vyskytuje se v rostlinách ( bříza srdčitá, brusnice brusinka, medvědice lékařská, brusnice borůvka).

Arbutin pomáhá i při hyperpigmentaci pokožky a má také diuretické účinky. Agátin patří do skupiny rostlinných drog. V přírodě existuje obrovské množství zajímavých přírodních látek, které člověk využívá ve svém každodenním životě. Arbutin je látka poměrně neznámá, ale její využití pro člověka je velmi rozmanité a důležité. Proto jsem se rozhodla, že se této látce budu věnovat ve své diplomové práci.

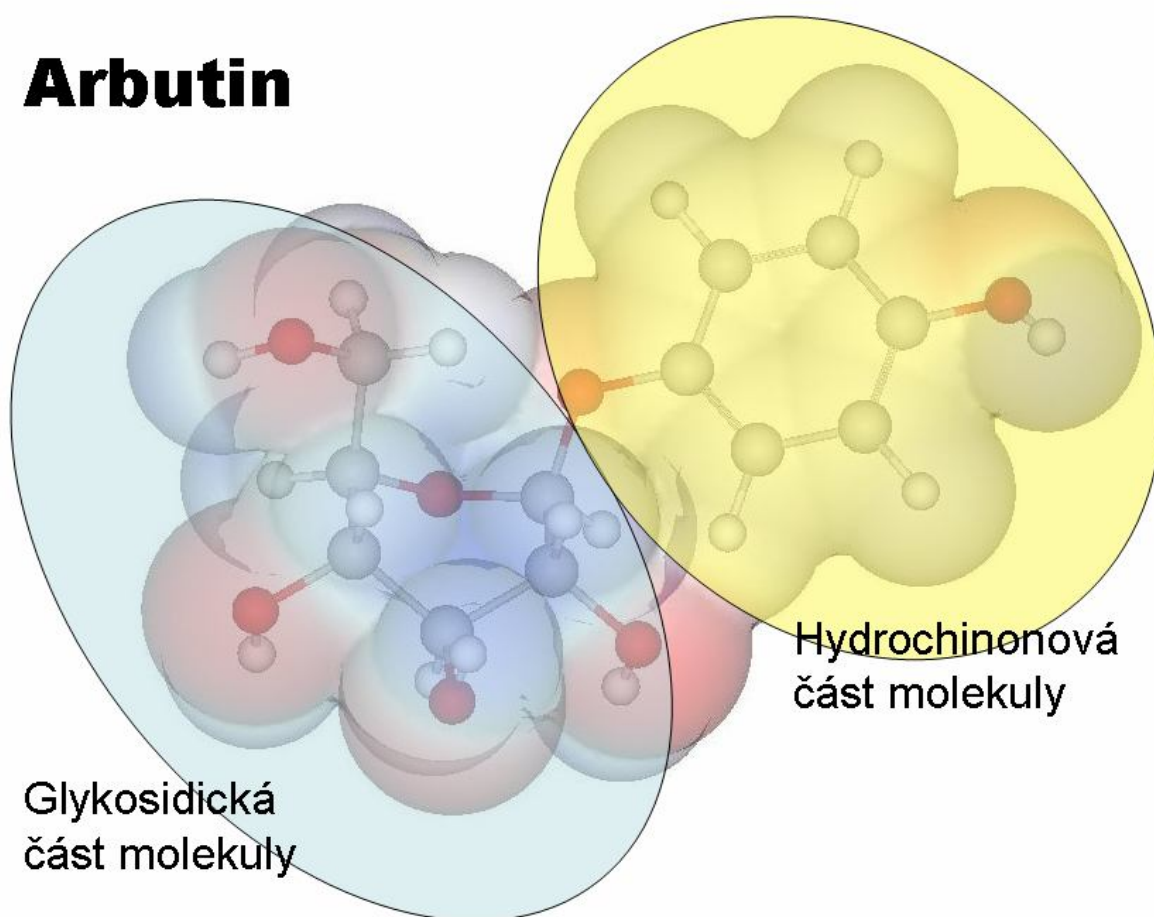
Cílem mé diplomvé práce by měla být izolace arbutinu z rostlinných zdrojů (brusnice borůvka, medvědice lékařská, vřes obecný) a to pomocí etrakce (Sohletův extraktor). Tyto etrakty by měly být podrobeny další analýze a to pomocí chromatografie na tenké vrstvě a následně pomocí IČ spektrofotometrie.

Diplomová práce se skládá z teoretické části a části praktické. Začátek práce je věnován popisu arbutinu, jeho vlastnosti. Dále jsou zde popsány rostlinné drogy a následuje kapitola o lidské kůži o kožních problémech. Jsou zde popsány i jednotlivé analýzy, které jsem v práci využívala. Závěr je věnován bakteriím a tkaninám, potřebných pro pokusy.

V praktické části je podrobně popsána metodika práce a je zde charakterizován pokusný materiál. Práce je doplněna barevnými fotografiemi, chromatogramy a jejich vyhodnocením, výpočty  $R_F$  pro jednotlivé rostliny. Dále je práce doplněna grafem a hodnotami naměřených spekter z analýzy IČ spektrofotometrií.

# 1 Arbutin

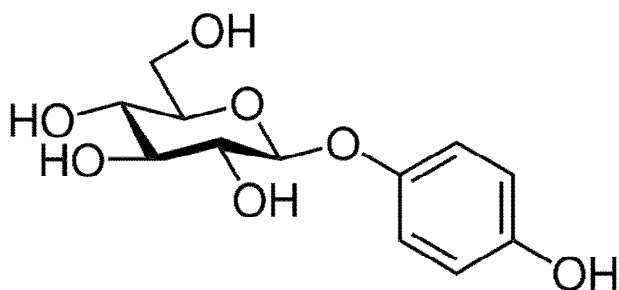
4-Hydroxyfenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid je přírodně se vyskytující glykosid hydrochinonu, obvykle s methylarbutinem. Tato látka se používá jako součást přípravků tradiční medicíny s antibakteriálními účinky. Vyskytuje se v rostlinách, například medvědice lékařská, brusnice borůvka, vřes obecný, bříza srdčitá a najdeme jej převážně v listech rostlin. Arbutin je složen z glukosy a hydrochinonu. Jeho rozkladem se uvolňuje hydrochinon, který bývá v drogách v malém množství obsažen. Jedná se o bílý, krystalický prášek, který je rozpustný v polárních rozpouštědlech. Tato látka při aplikování leptá sliznice.



Další fyzikálně- chemické vlastnosti, např.:

- bod tání = 199 – 201 °C
- pH = 5,0 – 7,0
- molární hmotnost = 272,251 g/mol
- molekulární vzorec = C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>7</sub>

Arbutin pomáhá při hyperpigmentaci pokožky. Má také diuretické účinky a byly prokázány i účinky bakteriostatické a baktericidní.



Arbutin byl zařazen do nejuznávanějšího lékopisu U.S. Pharmacopoeia už v r. 1926 a je samozřejmě také součástí oficiálního Českého lékopisu. V listech rostliny medvědice lékařské je přítomen v 8 % koncentraci (vztaženo na vysušenou drogu) a dosud nebyly publikovány žádné nežádoucí účinky arbutinu při jeho vnitřním podávání. Arbutin byl také mnohokrát podrobně zkoumán, aby byla objasněna jeho baktericidní účinnost. Bylo potvrzeno, že po vnitřním podání arbutinu je jeho molekula transformována uvnitř buňky sliznice střeva na hydrochinon a po jeho absorpci se dostává krevním oběhem do ledvin, kde se váže na složky moče (je-li moč alkalická) a vytváří tak dvě další nové látky, které inhibují nebo zabíjejí bakterie v močovém traktu.

Japonští výzkumní pracovníci zjistili v roce 1991 při studiu procesu melanogeneze (tvorby melaninu), že arbutin má také selektivní působení na melanocyty a velmi účinně inhibuje tvorbu melaninu. Následným studiem na tkáňových kulturách lidských melanocytů zjistili a identifikovali dvě místa v kaskádě reakcí, kde arbutin působí. O bezpečnosti arbutinu již existovalo mnoho dřívějších informací. Stará substance tak



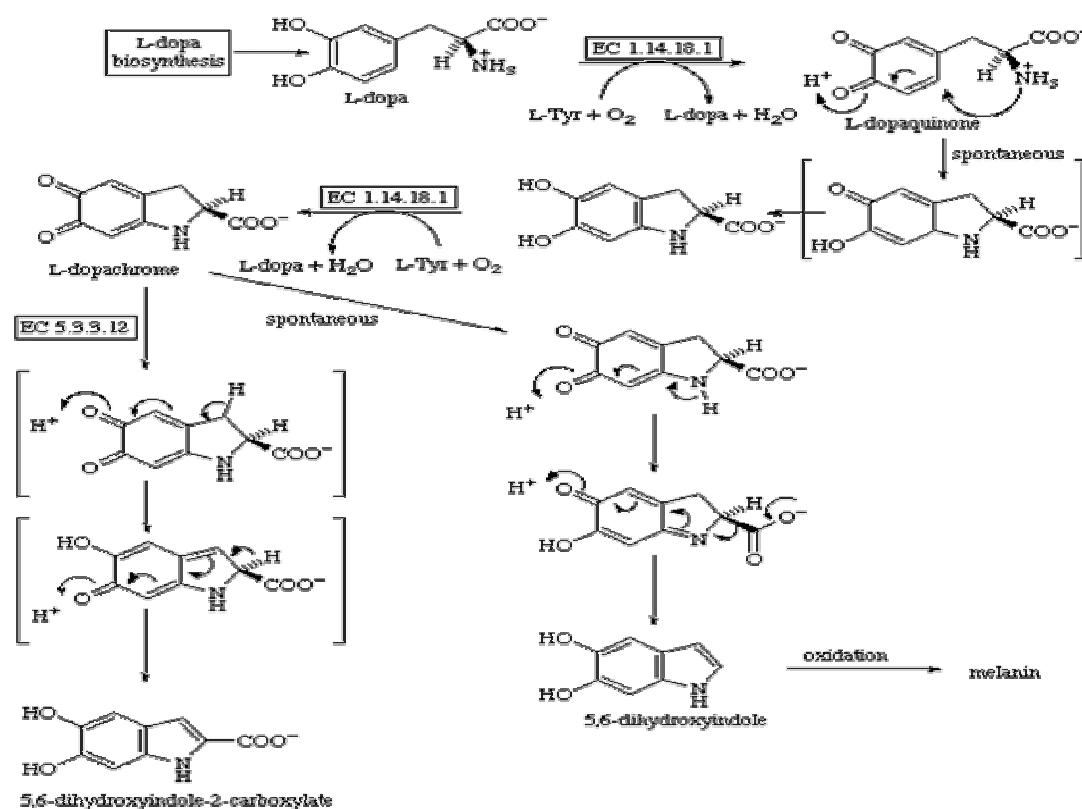
velmi rychle dostala nové využití. V mnoha kvalitních a osvědčených kombinovaných přípravcích byl hydrochinon nahrazen arbutinem. V současnosti je v seznamu 12 nejúčinnějších bělících látek používaných k odstraňování získaných hyperpigmentací, jako jsou solární nebo senilní lentigo (chronické poškození kůže UV zářením), kávová skvrna (café au lait – bez účasti UV záření), lentigo simplex (ostře ohraničená drobná pigmentovaná skvrna se zmnožením melanocytů), ephelides (pihy), melasma (skvrnitá hyperpigmentace většinou na obličeji po kosmetických přípravcích), chloasma (rovněž skvrnitá hyperpigmentace v těhotenství, při hormonální antikoncepci nebo hormonálních poruchách) aj.

Látka ve velmi účinné koncentraci je dosud jen přáním. Výrobci kvalitních přípravků proto řeší tento problém kombinací několika účinných bělících látek ve zcela bezpečných koncentracích, a tím zajišťují nejen jejich 100% bezpečnost, ale i maximální možnou účinnost konečného přípravku. Při výběru vhodného kosmetického přípravku určeného k odstraňování nežádoucích pigmentací je proto třeba se řídit nejen radou odborníka o vhodnosti takového řešení, ale jednoznačně dávat přednost přípravkům, které ve svém složení kombinují více účinných látek. Kombinace vhodných látek v jednom přípravku umožní rychleji a bezpečněji odstranit nadměrnou pigmentaci. Účinek aktivních bělících složek přípravku se navzájem kombinuje a ovlivňuje melanocyt ve více fázích tvorby pigmentu. Kombinované přípravky navíc obsahují i další bělící látky, např. kyselinu glykolovou, které zrychlují obnovu pokožky. Mírně zrychlená obnova pokožky je velmi žádoucí, neboť se tím urychluje i odstraňování rohových buněk s vysokým nahromaděním melanozomů s velkým množstvím melaninu.

### **1.1 Princip působení arbutinu – bělící účinek**

Arbutin brání tvorbě pigmentu melaninu v melanocytech blokováním účinku enzymu tyrozinázy v hyperaktivních melanocytech. Enzym tyrozináza je obvykle přítomný v neaktivní formě a je vytvářen v těchto melanocytech. Jeho aktivace UV světlem spouští melanogenezi, což je komplexní řada enzymatických chemických reakcí, které končí vytvořením melaninu. Efektivní zablokování tyrozinázy potlačuje řetězec reakcí melanogeneze.

### 1.1.1 Melanogeneze



OBRÁZEK 1 MELANOGENEZE

## **2 Vepřová kůže vs. lidská kůže**

Vepřová kůže se ve zdravotnictví používá k léčbě popálenin nebo při transplantacích. Prasečí kůže je totiž velmi podobná té lidské. Proto jsme i my pro prokázání bělícího účinku arbutinu použili vepřovou kůži.

Tyto vepřové části, jenž v medicíně využíváme se nazývají Xenotransplantáty. Tyto xenotransplantáty byly používány již od roku 1988. Prasečí dermo- epidermální xenoštěpy jsou skladovány při teplotě 4°C po příslušné, přesně definované preparaci sulfonamidy a antibiotiky. Jejich použitelnost je 10 – 14 dnů. Těmito dočasnými biologickými kryty bylo ošetřeno až 500 pacientů ročně. Byly používány pro krytí povrchních i hlubokých dermálních popálenin a také jako dočasný kryt u velkých rekonstrukčních výkonů. Kromě popálenin byly tyto kryty používány i v případě tzv. diabetické nohy. Bohužel po 32 letech bezproblémového používání však byly v roce 2005 odběry xenotransplantátů ukončeny vzhledem k velmi náročným kritériím na zdravotní prostředky zvířecího původu ze strany legislativy EU.

Velikou zajímavostí je, že prase je společně s člověkem jediným tvorem, které se na slunci dokáže spálit.

### 3 Rostlinné drogy

Rostlinná droga = sušené rostlinné suroviny obecně ( ne čerstvá léčivá rostlina), z planě rostoucích či kulturních rostlin. Složení komplexu obsahových látek a jejich celkový obsah se mění během vývoje rostliny a její vegetace. Pravidla sběru: Listy a natě se sklízají krátce před rozkvetem nebo během kvetení. Květy se sklízají před plným rozvinutím, někdy i ve stadiu pupenů. Plody a semena se sklízají při plné zralosti. Kořeny a oddenky se sklízají v době vegetačního klidu (podzim, jaro). Kůra se sbírá na začátku vegetace.

Účinné složky mohou být buď v celé rostlině nebo jen v některé její části: Nadzemní části rostliny: nať (herba), lodyha (summitas), pupen (gemma), list (folium), dřevo (lignum), kůra (cortex), květ (flos), plod (fructus), oplodí (pericarpium), stopka (stipes), semeno (semen), výtrusy (sporae). Podzemní části rostliny: kořen (radix), oddenek (rhizoma), hlíza (tuber), cibule (bulbus).

#### 3.1 Složky rostlin obecně:

- „Alkaloidy - dusíkaté, bazické sloučeniny, většinou přítomny ve formě solí s organickými kyselinami, jejich role v rostlinách není doposud známá, většina z nich je pro člověka prudkým jodem.
- Glykosidy - zásobní a ochranné látky rostlin, většinou hořké a jedovaté. Tvorba glykosidů má pro rostlinu pravděpodobně detoxikační význam, neboť lipofilní toxické látky se vazbou na cukernou složku stávají ve vodě rozpustnými a mohou být tudíž transportovány.
- Saponiny - při třepání s vodou silně pění, krevní jedy (rozrušují červené krvinky). Neutrální a kyselé, terpenické a steroidní. Podporují vstřebávání jiných účinných složek, dráždí žaludeční a střevní sliznice, způsobují až těžké záněty.

- Třísloviny - bezdusíkaté vysokomolekulární látky různého charakteru (hydrolyzovatelné a nehydrolyzovatelné) se společnou vlastností - vydělávání živočišných kůží. Svíravá chuť. Na vzduchu a skladováním oxidují a ztrácejí účinek. Zastavují krvácení, působí protizánětlivě, protiprůjemně.
- Hořčiny - nejedovaté, bezdusíkaté sloučeniny, obvykle nemají jiné vlastnosti, než že jsou hořké a povzbuzují chuť k jídlu.
- Silice - etherické oleje, směsi zpravidla vonných látek různých druhů, nejčastěji terpenické. Definují se jako těkavé, intenzivně vonící směsi přírodních látek olejovité konzistence, lipofilní, ve vodě těžce rozpustné. Vyznačují se optickou aktivitou a vysokým indexem lomu (přítomnost nenasycených sloučenin s dvojnými a trojnými vazbami). Působí desinfekčně, mají různé účinky (na nervovou soustavu, vyměšování trávicích šťáv, podporují chuť k jídlu, dráždí kůži).
- Pryskyřice a balzámy - amorfnní hmoty, které se získávají poraněním, nařezáním nebo otloukáním kmene stromů. Surový produkt má sirupovitou konzistenci a označuje se jako balzám, po vydestilování lehce těkavých složek se získají pevné podíly - pryskyřice. Pryskyřice jsou po chemické stránce směsi terpenů, pryskyřičnatých kyselin, jejich esterů, pryskyřičnatých alkoholů a jejich esterů s aromatickými kyselinami. Nerozpustné ve vodě, rozpustné v nepolárních rozpouštědlech. Balzámy mají vysoký obsah aromatických balzamických kyselin (skořicová, benzoová).
- Slizy - polysacharidy, které tvoří stélku mořských řas, vodou silně bobtnají, pokrývají a chrání sliznice, projímadla. Součástí odtučňovacích čajů, čerící prostředek v pivovarnictví a vinařství, emulgátory v potravinářství.
- Gumy - amorfnní látky, opticky aktivní, ve vodě tvoří koloidní lepivé roztoky, reagují kyselé. Vznikají přeměnou látek v rostlinných blanách. Chemicky to jsou polysacharidy tvořené arabinosou, rhamnosou a galaktosou zakončené nejčastěji glukuronovou kyselinou, zpravidla ve formě solí vápníku, draslíku a hořčíku. Příčina tvoření gumy není zcela jasná, vzniká i patologickými pochody. Emulgátory, stabilizace suspenzí (arabská guma).

- Tuky a oleje - estery glycerolu s mastnými kyselinami tvoří 95 - 98 %, zbytek tzv. nezmýdelnitelný podíl je tvořen fosfolipidy, steroly, vosky, vitaminy, uhlovodíky. V rostlinných olejích je na sekundárním hydroxylu vázána obvykle nenasycená mastná kyselina s kratším řetězcem (do C18), další dvě kyseliny, nasycené i nenasycené, mají delší řetězec. V živočišných tucích se i v poloze 2 váže nasycená mastná kyselina. Vyšší obsah nenasycených kyselin vede k tekuté konzistenci (olej), naopak tuky mají vyšší podíl nasycených kyselin. Tuky a oleje se vyskytují ve všech rostlinných orgánech, ve vyšších koncentracích se jako rezervní látky ukládají zejména v plodech a semenech. Většina tuků a olejů nemá specifické farmakologické účinky, jsou indiferentní. Při aplikaci na kůži a sliznice působí jako krycí a dráždění mírnící prostředek, omezují odpařování vody, udržují vlhkost, měkkost a elasticitu kůže. Vnitřně působí projímavě. Zvláštní význam mají oleje, které jsou nositelem účinku tzv. vitaminu F. Vyskytují se zejména v klíčkových olejích (lněný, podzemnicový) a obsahují tzv. esenciální (nenahraditelné) mastné kyseliny, které savci nejsou schopni produkovat, ale musejí být dodávány potravou. Jejich dalším významným zdrojem je rybí tuk a oleje izolované např. z jater ryb. Při jejich nedostatku je narušena syntéza bílkovin, dochází k poruchám metabolismu a narušuje se získávání energie.
- Vosky. Estery vyšších jednosytných alkoholů (nejčastěji alifatické, C14 -C36, ale i steroidní alkoholy a triterpenické) s vyššími mastnými kyselinami, vyskytují se na povrchu listů a plodů jako ochrana před nadměrnou ztrátou vody. Chemicky stálé, pomocné látky např. při přípravě masťových základů.
- Mléčné šťávy.
- Minerální látky.
- Organické kyseliny - jablečná, citronová, vinná, šťavelová apod. Většinou projímavé.
- Vitamíny, biogenní aminy.

- Látky s hormonálním působením - většinou málo prozkoumané, z nich nejvíce steroidy (solasodin, tomatin), biokatalyzátory, fytoestrogeny.“<sup>1</sup>

## **4 Kůže**

„Kůže (integumentum commune) není jen jednoduchý obal, který pokrývá naše tělo. Je to aktivní a přizpůsobivý orgán, který je kromě jiného vodotěsný, takže nevysycháme, je – li horko, ani nepromokneme v případě deště. Chrání nás před škodlivým slunečním zářením. Kůže je dostatečně pevná, aby působila jako ochranný štít proti nárazům, a přece dostatečně pružná, aby dovozovala pohyb. Podle potřeby zadržuje teplo anebo ochlazuje tělo, a tak udržuje konstantní vnitřní teplotu.“<sup>2</sup>

### **4.1 Stavba a struktura kůže**

„Kůže se skládá ze dvou hlavních částí. Vnější část – pokožka (epidermis) – se skládá z několika vrstev buněk, z nichž nejvnitřnější se nazývá základní vrstva, matrix. V ní se buňky neustále dělí a posouvají k povrchu, kde se zplošťují, odumírají a mění se na materiál nazývaný kreatin, ten se nakonec odlupuje z povrchu kůže jako drobné, sotva viditelné šupinky. Buňka se z nejvnitřnější, bazální vrstvy kůže dostane na povrch za tři až čtyři týdny. Vnější ochranná vrstva je pevně připojená k vrstvě ležící pod ní, která se nazývá škára, vlastní kůže ( dermis nebo korium). Drobné prstovité výběžky zapadají do jamek v pokožce. Toto vlnovité spojení dvou vrstev kůže vytváří brázdy, které jsou nejzřetelnější na bříškách prstů a vytvářejí otisky prstů.

Škára ( dermis) se skládá ze svazků kolagenních a elastických vláken. Ve škáře jsou uloženy potní, mazové a pachové žlázy, vlasové folikuly, krevní cévy a nervy. Nervy pronikají až do pokožky, ale krevní cévy jsou ve škáře. Vlasy a vývody žláz procházejí pokožkou na povrch.“<sup>3</sup>

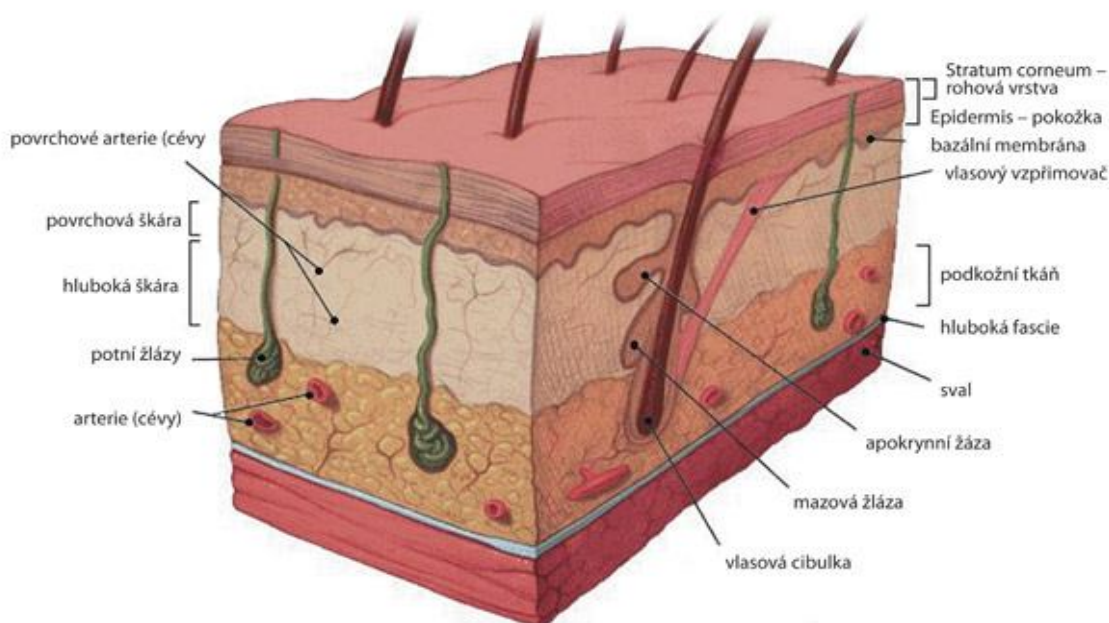
---

<sup>1</sup> Moravcová, J.: Biologicky aktivní přírodní látky, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT Praha. 2006.

<sup>2</sup> Westen, T. : Atlas lidského těla, Fortuna Print, Praha 1995.

<sup>3</sup> Westen, T.:Atlas lidského těla, Fortuna Print, Praha 1995.

## Stavba kůže



OBRÁZEK 2 STAVBA KŮŽE, ZDROJ: [HTTP://WWW.OILATUM.CZ/?MODULE=18](http://www.oilatum.cz/?module=18)

### 4.2 Barva kůže

„Barva kůže závisí na černém pigmentu melaninu. Melanin se nachází i ve vlasech a v oční duhovce. Vytváří se v buňkách zvaných melanocyty, uložených v bazální vrstvě kůže. V kůži každého člověka se nachází stejné množství melanocytů bez ohledu na rasu. Množství melaninu, které produkují tyto buňky, značně kolísá. U tmavé rasy jsou melanocyty větší a tvoří více pigmentu. Funkcí melaninu je chránit kůži před škodlivými slunečními paprsky. Tmavší kůže je proto odolnější vůči slunečnímu záření. Složitý chemický proces v těle, při němž se přeměňuje aminokyselina tyroxin na melanin, probíhá v okrajové části každého melanocyty. Vytvořený pigment se přesouvá do středu buňky, aby překryl a chránil mimořádně citlivé jádro. Ultrafialové záření z umělých zdrojů nebo i ze slunce stimuluje tvorbu melaninu při opalování. Vytvoří se melanin, buňky se zvětší a kůže



ztmavne. Reakce je individuální, ale všichni lidé kromě albínů ztmavnou, pokud jsou vystaveni dostatečnému slunečnímu záření.“<sup>4</sup>

## **5 Kožní problémy**

### **5.1 Hyperpigmentace pokožky**

Melanogeneze je proces tvorby kožního barviva - melaninu. Při místní poruše regulace melanogeneze dochází k nadměrné produkci kožního barviva a vznikají hnědé pigmentové skvrny. Znalost tohoto procesu nám umožňuje porozumět mechanismu účinku různých léčebných prostředků proti hyperpigmentaci, které máme toho času k dispozici. K tvorbě kožního barviva dochází ve specializovaných buňkách - melanocytech, které jsou umístěny v hloubce na rozhraní dvou vrstev kůže - škáry a pokožky. Vytvořené barvivo je distribuováno do okolních buněk pokožky - keratinocytů. Rozlišujeme dva druhy melaninů: phaeomelaniny, které mají barvu žlutou až oranžovou a eumelaniny, které jsou hnědé až černé. Vyvážená směs melaninů propůjčuje kůži její obvyklou barvu.

Základem pro tvorbu melaninů je aminokyselina tyrozin. Při syntéze kožního barviva na sebe navazuje působení několika enzymů, z nichž nejdůležitější jsou dva:

1) Tyrosináza působí na počátku melanogeneze a ovlivňuje celkové množství vyprodukovaného melaninu.

2) TRP-1 (Tyrosinase Related Protein - 1) se uplatňuje až po působení tyrosinázy a má vliv zejména na tvorbu černého melaninu, tudíž na sytost zbarvení kůže.

Existuje několik faktorů schopných vyvolat výskyt hnědých pigmentových skvrn:

- nadměrné vystavení slunečnímu záření
- stárnutí kůže
- hormonální změny (hormonální antikoncepce, těhotenství...)
- účinek některých chemických látek (některé složky parfémů a léky...)

---

<sup>4</sup> Rozsypal, S.: Přehled biologie, Scientia, Praha 1998.

- kožní změny (nemoci) (zánět, jizvy...)

Hnědé skvrny jsou často projevem nezhoubné hyperpigmentace vyvolané nadměrnou tvorbou melaninu na ohraničeném místě.

#### 5.1.1 Hyperchromní skvrny

- Pihy jsou velmi časté u osob světlé pleti. Vlivem slunečního záření se zvyšuje jejich počet a barevný odstín se stává tmavším.
- Stařecké lentigo se objevuje u starších osob na nekrytých částech těla. Vzniká sčítáním účinku opakovaných malých dávek slunečního záření.
- Solární lentigo se vyskytuje na kůži nadměrně vystavené účinku slunečního záření.

#### 5.1.2 Hyperchromní plochy

- Melasma - Jde o plošnou, často hyzdící pigmentaci na obličeji. Vyskytuje se hlavně u brunetek. Obrysy skvrn jsou nepravidelné, avšak rozptýlení pigmentu je souměrné. Postihuje čelo, spánky, tváře, horní ret a bradu. Zbarvení je jednolitě nebo jde o výsev malých skvrn. Vlivem slunečního záření se intenzita zbarvení zvyšuje. Příčin vzniku melasmatu může být několik:
  - kombinovaná kontraceptiva
  - těhotenství - zde se označuje jako chloasma nebo též těhotenská maska
- Pigmentová dermatitida je důsledkem přecitlivělosti na světlo, vyvolané používáním některých parfémů. Bergamotová, santalová, citronová silice i výtažky z jiných citrusových plodů zvyšují citlivost kůže na sluneční záření a vyvolávají vznik skvrn na místech, kam byl parfém nanesen.

## 6 Bělicí látky

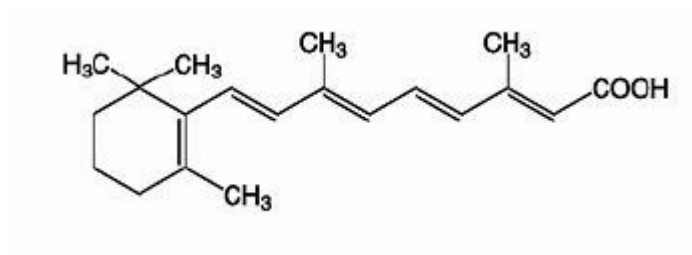
### 6.1 Obecné rozdělení

- **Abraziva** (exfolianty) napomáhají odstranění horní vrstvy kůže, aby byl odstraněn melanin obsažený v buňkách na povrchu. Nepůsobí na produkci melaninu v hlubších vrstvách pokožky. Vyvolávají poměrně rychlé částečné zlepšení, které je pouze přechodné, protože melanin se tvoří dál a skvrny se budou znovu a znovu objevovat.
- Jiné látky jako **hydrochinon, kyselina kojová nebo arbutin** působí do hloubky. V melanocytech inhibují tyrozinázu a tím omezují nadměrnou tvorbu melaninu. Tato neúplná inhibice sice omezuje celkovou produkci barviva, nemění však jeho barvu, protože TRP-1 nadále produkuje hnědé eumelaniny. Navíc některé z těchto látek mohou být toxické.

### 6.2 Nejznámější bělicí látky pro odstranění pigmentových skvrn

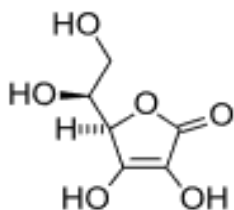
- **Hydrochinon** - oblíbené bělidlo, používané již desítky let. Inhibuje enzym tyrozinázu, který podněcuje tvorbu melaninu a tím vlastně brání vzniku nového pigmentu, a zřejmě je schopen ničit i již hotové melanosomy a také pigmentové buňky. Používá se koncentrace 2-6 %, přičemž v účinnosti tří, čtyř a šestiprocentního přípravku nebyly pozorovány významné rozdíly. V testech hydrochinon částečně či zcela pomohl 60-90% pacientů. Přípravek je nutné používat alespoň 5 týdnů, po 5-7 týdnech bývá patrný výsledek a léčba by měla pokračovat tři měsíce až jeden rok. A nevýhody? Výsledek je bohužel reverzibilní, to znamená, že po ukončení léčby se skvrny mohou vracet. Hydrochinon je lehce dráždivý a během léčby může dojít k zarudnutí nebo olupování pokožky, štípání či vyrážce. Zareaguje-li pokožka silněji, může opět propuknout pozánětlivá hyperpigmentace. Při používání vyšších koncentrací než 2% může naopak dojít k hypopigmentaci, tj. vymizení pigmentu - místo tmavého fleku se objeví najednou bílý, světlejší než okolní normální pleť. Na rozdíl od pigmentových skvrn se tyto bílé fleky bez pigmentu nedají prakticky nijak léčit.

- **Kyselina kojová** - tato kyselina je na rozdíl od hydrochinu naopak poměrně nová záležitost. Jméno dostala podle japonského názvu (koji) plísně *Aspergillus oryzae*, která tuto kyselinu produkuje. Mechanismus jejího účinku je podobný, brzdí enzym tyrozinázu. Používá se v koncentraci 1 % , vyšší koncentrace nezvyšuje účinek. Podle některých zdrojů je dokonce účinnější než hydrochinon, každopádně má méně vedlejších účinků - není tak dráždivá. Nejčastějším vedlejším účinkem je kontaktní alergie, která se však vyskytuje především v Japonsku, kde se tato kyselina hojně používá (nejen v kosmetice - aplikuje se také na krájené ovoce, aby nehnědlo). Respektive používala, v současnosti je kosmetika s kyselinou kojovou na japonském trhu zakázána. Aplikuje se 2x denně po dobu cca dvou měsíců, opět nejlépe v zimě. Kyselina kojová je také poněkud nestabilní, rychle se rozpadá a z přípravku mizí.
- **Kyselina azelainová (azelaová)** - kyselina, která selektivně účinkuje na příliš aktivní a abnormální melanocyty, nehrozí proto nežádoucí vybělení okolních míst. Používá se v koncentraci 10-35 % , ideální průměr je 20 % . Je účinnější než hydrochinon a kromě někdy se vyskytujícího počátečního podráždění nemá vedlejší účinky. Z uvedených látek je patrně nejbezpečnější. Aplikuje se 2x denně po dobu mnoha měsíců, přičemž výsledky začnou být vidět po 1-2 měsících.
- **Isoproylcatechol** - používá se v koncentraci 1-3 % a k výraznému zlepšení dochází u více než 60 % pacientů. Je však vysoce toxický pro melanocyty a musí se proto užívat velmi opatrně a zásadně pod lékařským dohledem.
- **Tretinoin** - používá se v poměrně nízkých koncentracích (0,05 - 1 %) a jeho účinnost je celkem dobrá, přičemž kombinací s jinými bělícími látkami se ještě zvyšuje. Tretinoin se však musí aplikovat velmi dlouhou dobu (2 roky) a není bez vedlejších účinků - jde totiž o kyselinu, takže se může vyskytnout pálení, zarudnutí, štípání a olupování. Naprosto nezbytná je ochrana kůže krémem s vysokým faktorem.



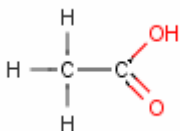
OBRÁZEK 3 TRETINOIN

- **Kyselina askorbová (vit. C)** - přidává se běžně do kosmetických prostředků jako antioxidant, ale má i schopnost tlumit funkci melanocytů. Do bělicích přípravků se dávají deriváty vitamínu C, které se v kůži mění na kyselinu L-askorbovou, která je jako jediná schopná působit na melanocyty. Přímá aplikace kyseliny L-askorbové je nemožná, protože jde o velmi nestabilní kyselinu, která by v krému v kelímku příliš dlouho nevydržela.



OBRÁZEK 4 VIT.C, ZDROJ: [HTTP://VITAMIN-C.NAVAJO.CZ/VITAMIN-C.PNG](http://vitamin-c.nava jo.cz/vitamin-c.png)

- **Kyselina citronová, octová** - tyto kyseliny působí přímo na melanin, nikoli na melanocyty, a přeměňují ho na světlý leukomelanin. Proto se za časů našich babiček doporučovalo potírat pihy citrónem nebo octem, a dodnes tuto metodu používají některé starší dámy na stařecké skvrny

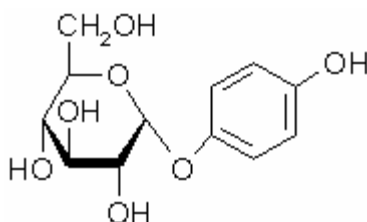


OBRÁZEK 5 KYSELINA OCTOVÁ

- **Peroxid vodíku** - vlasy zesvětlí spolehlivě, ale na pigment v kůži nemá dostatečný účinek. Bělení pigmentových skvrn peroxidem není možné.

## 7 Baktericidní účinnost arbutinu

Arbutin je látka schopná ničit nebo zabíjet škodlivé bakterie v našem těle. Bylo potvrzeno, že po vnitřním podání arbutinu je jeho molekula transformována uvnitř buňky sliznice střeva na hydrochinon a po jeho absorpci se dostává krevním oběhem do ledvin, kde se váže na složky moče (E.coli) a vytváří tak dvě další nové látky, které inhibují nebo zabíjejí bakterie v močovém traktu.



OBRÁZEK 6 ARBUTIN, ZDROJ: [WWW.STEVE.GB.COM/.../SUGARS/ARBUTIN.PNG](http://WWW.STEVE.GB.COM/.../SUGARS/ARBUTIN.PNG)

## 8 Chemická podstata arbutinu

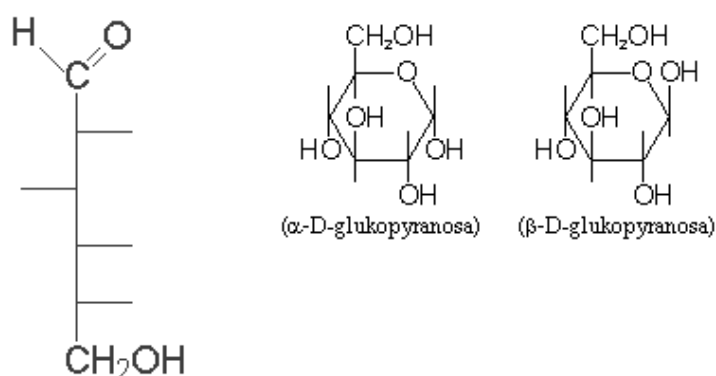
### 8.1 Obecná charakteristika

Arbutin je glykosid. Glykosidy jsou deriváty cukrů, u nichž je hydroxylová skupina v poloze 1 pyranosového či furanosového kruhu nahrazena zbytkem necukerné molekuly, tzv. aglykonem či geninem. Je-li aglykon vázán přes atom kyslíku, glykosidy se označují jako

O-glykosidy, podobně existují N-glykosidy, S-glykosidy či C-glykosidy. Glykosidy po chemické stránce jsou cyklické acetaly a podle konfigurace na C-1 mohou existovat jako  $\alpha$ - nebo  $\beta$ - glykosidy. Přírodní glykosidy cukrů řady D jsou prakticky vždy  $\beta$ -glykosidy, některé L-cukry tvoří  $\alpha$ -glykosidy.

Cukernou složkou (glykonem) je celá řada monosacharidů, pentos i hexos, v přírodě obvykle hojně zastoupených – glukosa, galaktosa, xylosa, arabinosa, rhamnosa apod. Glykosidy ale tvoří i řada méně obvyklých monosacharidů, zejména deoxycukrů a rozvětvených cukrů. Na jeden aglykon může být vázáno více molekul monosacharidů, má-li aglykon více hydroxylových, thiolových či aminoskupin, nebo jsou monosacharidy spojené vzájemně další glykosidickou vazbou.

#### D-glukosa



---

OBRÁZEK 7 GLUKOSA, ZDROJ: [WWW.PED.MUNI.CZ/.../WWW\\_UCITELE1/GLUKOSA.GIF](http://WWW.PED.MUNI.CZ/.../WWW_UCITELE1/GLUKOSA.GIF)

## **9 Glykosidy v rostlinné říši**

### **9.1 Chemická podstata glykosidů**

Glykosidy jsou hojně rozšířeny v celé rostlinné říši. Některé druhy jsou charakteristické pro danou čeleď rostlin, např. (thioglykosidy pro brassicaceae), ale častěji je přítomno více typů glykosidů. Pro rostlinu má tvorba glykosidů pravděpodobně význam detoxikačního mechanismu, kterým se toxické a lipofilní, ve vodě nerozpustné látky, transformují na sloučeniny ve vodě rozpustné, které mohou být v těle rostliny transportovány.

Glykosidy mohou také sloužit k ukládání cukrů nebo snad i aglykonů, protože glykosidická vazba se velmi snadno štěpí (hydrolysuje) v mírně kyselém prostředí. Samozřejmě se rovněž snadno štěpí enzymaticky působením specifických glykosidas, kterých je v přírodě skutečně mnoho.

Často jsou enzym a glykosid uloženy v rostlině odděleně a do styku přicházejí teprve až když nastanou změny v permeabilitě buněčné stěny, např. odumíráním pletiva, rozdrčením pletiva apod. V některých případech se hydrolysou uvolní účinné složky (např. hořčičné silice) nebo naopak účinek glykosidů se ztrácí (např. hydrolysa kardiotonických glykosidů).

V drtivé většině glykosidů je biologický či jiný účinek spojen s aglykonem, cukerná část ho však může speciálním způsobem modifikovat.

#### **9.1.1 Třídění glykosidů**

- fenolové glykosidy
- glykosidy kumarinů a jejich derivátů
- flavonoidové glykosidy
- antokyanidinové glykosidy
- antrachinonové glykosidy
- kardioaktivní glykosidy
- saponiny



- kyanogenní glykosidy

## 9.2 Rostlinné glykosidy

Kůra vrby bílé (*Salix alba* L.) nebo mladé zimní pupeny. kůra mladých stromů topolu černého (*Populus nigra* L.) nebo topolu bílého (*Populus alba* L.) obsahují glykosidy salicin, patulin a další, v množství kolem 10 % (obsah kolísá podle druhu). Oba glykosidy se hydrolysuji na salicylalkohol (saligenin), který oxidací dává kyselinu salicylovou. Od ní se také odvíjejí biologické vlastnosti salicinu a populinu: působí desinfekčně, snižují horečku, zmírňují bolest hlavně při revmatismu, uklidňují při nespavosti a zevně se používají na koupele při hemeroidech a popáleninách.

V současné době je tato droga nahrazena syntetickými deriváty kyseliny salicylové. Methylester kyseliny salicylové má charakteristickou vůni a v rostlinách je někdy vázán s cukrem primverosou na glykosid gaultherin (např. v bříze). Olej získaný destilací březové kůry s vodní parou obsahuje až 98 % methylsalicylátu, který má lokálně dráždivý účinek a používá se ve formě masti při revmatismu.

Gaultherin je zastoupen i v nati a květech tužebníku jilmového (*Filipendula ulmaria* L.), jehož silice dále obsahuje salicylaldehyd a methylsalicylát. Používá se jako antipyretikum při chřipce a revmatismu. Glykosidy primaverin a primulaverin jsou obsaženy ve květech prvosenky jarní (*Primula veris* L.). Tato droga účinkuje při zánětech horních cest dýchacích, rozedmě plic, akutní i chronické bronchitidě. Je součástí léků Solutan, Tussilan, Apertuss a Benephorin.

Arbutin, který patří do skupiny fenolových glykosidů je nejvíce obsažen v těchto rostlinách:

- medvědice lékařská - *Arctostaphylos uva-ursi* (L).
- brusnice borůvka - *Vaccinium myrtillus* L.
- vřes obecný - *Calluna vulgaris* L.
- brusnice brusinka - *Vaccinium vitis-idaea*

### 9.3 Fenolové glykosidy

Fenolické glykosidy obsahují sacharid navázaný na fenolickou skupinu. Aglykon fenolových glykosidů je tvořen aromatickým jádrem s rozdílným biogenetickým původem. Některé aglykony jsou odvozeny od kyseliny šikimové, jiné od kyseliny octové. Mnohé fenolické látky jsou v rostlině přítomny v glykosidické formě, která se po sběru odštěpuje a uvolňuje se tak sama aktivní sloučenina. To je například případ vanilinu nebo salicinu. Floridzin se vyskytuje v některých druzích čeledi vřesovcovitých (Ericaceae) a také v kůře kořenů stromů čeledi růžovitých (Rosaceae), jako jsou jabloně, hrušně či třešně. Zvyšuje vylučování cukru močí, blokuje zpětnou resorpci glukosy a snižuje koncentraci glukosy v krvi (způsobuje hypoglykémii). 5-hydroxynaftohydrochinon-4- $\beta$ -D-glukosid se nachází v nezralém oplodí ořešáku královského (Juglans regia). Volný aglykon je nestálý, proto se po rozpadu oxiduje na příslušný naftochinon, který se nazývá juglon. Ten intenzivně barví kůži do hněda. Kyselina salicylová je aglykonem glykosidu gaulterinu, který se vyskytuje např. v severoamerickém druhu Gaultheria procumbens (vřesovcovité) a také v našich druzích bříz (Betula sp.). Gaulterin má charakteristický zápach, hydrolyzuje na primverosu a methylester kyseliny salicylové. Strukturně příbuzné glykosidy, obsahující jako aglykon methylester kyseliny m-metoxysalicylové a p-metoxysalicylové, vyskytující se též v nati violky (Viola tricolor). Jde zejména o glykosidy primulaverosid a primverosid. V kůře vrby (Salix sp.) se vyskytuje glykosid salicin a též volná kyselina salicylová. Tyto látky účinkují proti horečce a bolesti. Kyselina salicylová je však pro svou hořkou chuť nahrazována syntetickou kyselinou acetylsalicylovou. Vanilosid je glykosid, obsažený v plodech vanilovníku plocholistého (Vanilla planifolia). Z tohoto glykosidu vzniká fermentací vanilin, který je nositelem vůně a chuti vanilky.

## **10 Rostliny obsahující arbutin**

### **10.1 Medvědice lékařská**



*OBRÁZEK 8 MEDVĚDICE LÉKAŘSKÁ, ZDROJ: [WWW.ENVIPORT.CZ/PRINT.ASPX?ASSID=50787](http://WWW.ENVIPORT.CZ/PRINT.ASPX?ASSID=50787)*

V medvědici lékařské se arbutin nachází v množství 5-12%. Původním glykosidem je methylarbutin. V obou je glykosidická vazba snadno hydrolyzovatelná. Z arbutinu vzniká hydrochinon, který se snadno oxiduje i vzdušným kyslíkem, ale i působením oxidas a poskytuje černě zbarvené oxidační produkty. Droga je součástí urologického čaje, působí dezinfekčně na močové cesty.

„Je to stále zelený, až jeden metr vysoký zakrslý keř. Má kožovité, malé, celokrajné listy s plochým okrajem, na povrchu tmavě leskle zelené, vespodu s žilkami. Bobulovité plody jsou moučnaté a barvy šarlatově červené. Medvědice patří do čeledi vřesovcovitých. Vědecký název pochází z řeckého slova arktos, tj. medvěd a dalšího slova stafylé, což je hrozno, protože její plody s oblibou žerou medvědi. Laponci dodnes rádi konzumují plody a listy používají jako černé barvivo. Je důležité si uvědomit, že medvědici je možné zaměnit s brusinkou, ale ta má na spodní straně tečkované žlázy a na plodech zbytky čtyřdílného kalichu kolem prohloubeného vrcholu. Medvědice lékařská je hojně rozšířená, roste v Evropě, Severní Americe ba dokonce i v takových nehostinných zemích, jako je Grónsko či Sibiř. Dříve se používala v severní Evropě k vydělávání kůží. Ve střední Evropě se začala používat jako léčivá rostlina od 18. století (ale už ve 13. století ji uváděly anglické herbáře).

Medvědice léčivá roste na slunných a vlhkých stanovištích, jako jsou například rašeliniště či vřesoviště. Roste ale také v horských oblastech až do výšky 2500 metrů nad mořem. Z rostliny se používají a suší listy.

Má antibakteriální účinek. Listy medvědice pomáhají při zánětech močového měchýře i při nemocech močových cest (dezinfikuje moč svým účinkem). Používá se v tradičním léčitelství dále při obtížích při močení, tvorbě močových kamenů a zvláště je uváděno, že se používalo při náhlém zánětu močového měchýře spojeného se špatným vylučováním a kyselou močí. K pití se připravuje nálev, který se má nechat vyluhovat až osm hodin. Pokud se nálev připravuje takto, obsahuje jen málo tříslovin, které mohou u lidí s citlivým žaludkem vyvolávat nevolnost a dávení. Je doporučováno pít jeden šálek teplého čaje třikrát denně.

Medvědice je součástí mnoha čajových směsí a součástí přírodních produktů, které zvyšují množství moči a tím vyplavují bakterie. Bývá součástí směsí urologických, diuretických, žlučnickových, antirevmatických nebo antidiabetických směsí. Čaj z medvědice lékařské účinkuje nejlépe, pokud v době jeho užívání obsahuje strava mnoho mléka, zeleniny - hlavně rajčat, ovoce, brambor a ovocných šťáv. Pokud neobsahuje, alternativou je užívání jedlé sody z lékárny. Do každého šálku se přidává na špičku nože jedlé sody, aby moč reagovala alkalicky, protože účinný hydrochinon se uvolňuje jen při zásadité reakci moče. Po resorpci se účinná látka arbutin štěpí na antisepticky působící hydrochinon. Další účinné látky jsou hyperosid, který působí diureticky a flavonoidy, které působí dezinfekčně.

Medvědice má dobré účinky, ale nelze ji užívat dlouhou dobu a ve velkém množství, hrozí nebezpečí poškození jater. Aby k těmto negativním účinkům nedošlo, neměl by se čaj bez přerušení užívat déle než jeden týden a ne častěji než pětkrát za rok. Děti a těhotné ženy medvědici užívat nesmějí. Nelze podávat s léky, které zvyšují kyselost moče.“<sup>5</sup>

---

<sup>5</sup> McVicarová, J.:Velká kniha o bylinkách, Knižní klub, Praha 1995

## 10.2 Brusnice borůvka (Vaccinium myrtillus L.)



OBRRÁZEK 9 BRUSNICE BORŮVKA, ZDROJ: :

[www.zspribyslav.cz/www/stezka/12\\_cz.php](http://www.zspribyslav.cz/www/stezka/12_cz.php)

„Je to drobný, bohatě větvený keřík s hustou sítí kořenů, podzemních výběžků a plazivých kmínků, ze kterých vyrůstají přímé zelené a až půl metru vysoké hranaté stonky se střídavými opadavými listy, které mají okrouhle vejčitou, zašpičatělou a na okrajích jemně vroubkovaně pilovitou čepel, která je lysá a slabě kožovitá. Stopkaté květy vyrůstající jednotlivě z úžlabí listů jsou převísle a mají nenápadnou baňkovitou zelenavě růžovitou korunu se 4 – 5 krátkými zoubkovitými cípy. Osm nebo deset tyčinek sedí na zvláštním nadplodním terči a jejich žluté prašníky mají na hřbetě dva růžkaté výrůstky. Pyl, který je slepen po 4 zrnech dohromady, vypadává z prašníků na horním konci dvěma otvory a nikoliv podélnou štěrbinou, jak tomu bývá u většiny rostlin. Semeník je spodní, složený ze 4 – 15 plodolistů a nese jednu dosti dlouhou čnělku, která přečnívá prašníky. Plod je modročerná, modravě ojněná bobule s tmavě červenofialovou dužinou, která je velmi šťavnatá a má osvěžující nakysle sladkou chuť. Kvete v květnu a červnu.

### 10.2.1 Výskyt:

Borůvka je rozšířena po celé Evropě, na východ zasahuje v pásmu tajgy až na střední Sibiř a vyskytuje se i v severozápadní Americe. V jižních oblastech svého rozšíření roste pouze ve vyšších polohách, u nás od nížin až vysoko do hor, kde se vyskytuje v kosodřevině nad hranicí lesa. Vytváří často rozsáhlé porosty, zejména v řídkých světlých lesích, na lesních okrajích a na rašeliništích. Nejlépe se jí daří v kyselých humózních půdách, vápencovým půdám se vyhýbá.<sup>6</sup>

### 10.3 Vřes obecný



OBRÁZEK 9 VŘES OBEČNÝ, ZDROJ: [WWW.KRUSNOHORCI.NET/CIST.PHP?CLANEK=127](http://WWW.KRUSNOHORCI.NET/CIST.PHP?CLANEK=127)

„Stále zelené keříky vřesu jsou okrasou zahrádek a skalek po celý rok, nejvíce však koncem léta, kdy rozkvétají v paletě barev od bílé přes růžovou, až po odstíny fialové. Kdo měl to štěstí se procházet po rozsáhlém vřesovišti v době květu ví, jak ladně a étericky působí takový rozkvetlý vřesový "koberec". Vřes obecný má rád chudší, písčité a rašelinovité půdy, vyskytuje se nejčastěji na slunných místech poblíž lesa, v oblastech s řídkým lesním porostem, na skalách a lukách v podhůří. Jeho pěstování na zahradce a skalce je nenáročné a dobře prosperuje i jako hrnková rostlina.

---

<sup>6</sup> Ody, P.: Velký atlas léčivých rostlin, Martin: Osveta, 1995.

Pravdou je, že ho většinou pěstujeme čistě pro okrasu, jeho léčivé účinky nejsou obecně příliš známé, jako léčivka však rozhodně stojí za naší pozornost.

### **10.3.1 Antidiuretické a další účinky vřesu**

Pro své močopudné a mírně potopudné účinky je vřes jednou z bylin, které na naše tělo působí detoxikačně. Pomáhá rozpouštět a odplavovat usazené toxiny z našeho těla, je tedy jednou z bylin, kterou můžeme použít pro naši jarní čistící kúru. Jeho diuretické působení ocení také ti z nás, kteří trpí zadržováním vody v těle a otoky končetin. Díky těmto vlastnostem je vřes velmi cennou bylinou, jejíž nesmírnou výhodou je, že nemá snad žádné známé nepříznivé účinky, je proto vhodný k dlouhodobému užívání.

Látky obsažené v této bylině mají jednu další úžasnou schopnost, totiž že naše tělo zbavují nebezpečné kyseliny močové, která se při vysokých hladinách v krvi usazuje v našich tkáních a orgánech. Pokud trpíme zvýšenou hladinou kyseliny močové v krvi, nejenže musíme razantně změnit způsob stravování, zároveň je třeba pomoci našemu tělu s vyplavením této velmi škodlivé látky. Vřes je rozhodně jednou z bylin, která nám v takovém případě pomůže, navíc je mnohem šetrnější, než některé syntetické preparáty se stejnou funkcí. Nejenže redukuje hladinu kyseliny močové v krvi, ale zbavuje nás i jejich již usazených krystalků v tkáních, nejčastěji v kloubech.

Vřes je také osvědčenou bylinou pro léčbu nemocí močových cest, ledvin a prostaty. Pro své dezinfekční a čistící účinky se doporučuje jak při infekčních zánětech těchto orgánů, tak při jejich snížené činnosti a k prevenci a doléčení potíží. Pomáhá dokonce i při rozpouštění a odplavování ledvinových kamenů.

Sušenou drogu této bylinky můžeme běžně koupit v lékárně, buď samotnou, nebo jako součást čajových směsí. Pokud si chceme vřes nasušit sami, vyrazíme na něj v druhé polovině léta, v době vrcholu jeho kvetení. (V některých oblastech vřes kvete i koncem jara.) Můžeme sbírat buď jen květ s příměsí lístků, nebo celou nať vřesu. Květy se sklízí jednoduše sdrhnutím z větviček po směru růstu. Při seřezávání natě volíme jen mladší nedřevnaté výhonky. Květy rozprostřené v tenké vrstvě, nebo nať zavěšená v menších svazečcích, schnou velice lehce.<sup>7</sup>

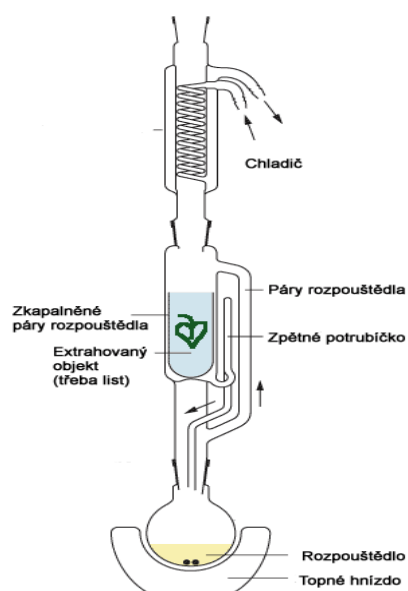
---

<sup>7</sup> McVicarová, J.: Velká kniha o bylinkách, Knižní klub, Praha 1995

# 11 Extrakční a separační metody

## 11.1 Extrakce

Tato metoda dělení směsí látek je založena na rozdílné rozpustnosti látek ve dvojici vzájemně nemísitelných rozpouštědlech (obvykle se jedná o vodu a organické rozpouštědlo). Pro kontinuální a vyčerpávající extrakci pevných látek se používá tzv. perkolace. Princip perkolace spočívá v přivádění stále čerstvého rozpouštědla na extrahovaný materiál. Prosakováním rozpouštědla vrstvou vhodně zrněného materiálu se rozpouštědlo obohacuje a postupně odtéká. Tento způsob izolace je zvláště vhodný pro látky citlivé k oxidaci, protože po celou dobu perkolace nepřicházejí do styku se vzduchem. Perkolace se provádí ve speciální aparatuře, z nichž nejznámější je Soxhletův extraktor. Extrahovaný materiál se plní do celulosové patrony. Rozpouštědlo v baňce se uvede do varu a páry stoupají boční trubicí do zpětného chladiče, kde kondenzují. Zkondenzované rozpouštědlo kape na materiál v patroně a extrahuje rozpustný podíl. Po naplnění extrakčního prostoru se roztok najednou násoskou převede zpět do varné baňky. Tento postup lze opakovat tak dlouho, až je extrakce úplná.



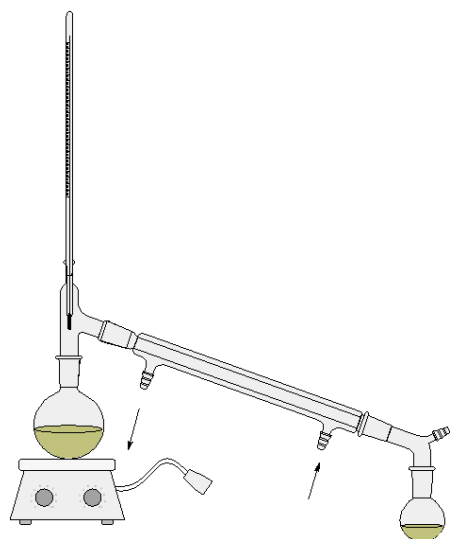
OBRÁZEK 10 SOXHLETŮV EXTRAKTOR



## 11.2 Destilace

Destilace je nejvhodnější a nejčastější metodou čištění kapalin. Podle typu provedení lze destilaci rozdělit na destilaci prostou, frakční (rektifikace), za atmosferického tlaku, za sníženého tlaku (vakuová destilace), s vodní parou.

Aparatura pro prostou destilaci se skládá z varné baňky, destilačního nástavce s teploměrem, chladiče a předlohy. Při destilaci kapalin s bodem varu přibližně do 140 °C se používá vodní chladič. Při vyšších teplotách je lepší přestat chladit vodou a použít chladič vzdušný. Pokud je destilovaná kapalina citlivá na vzdušnou vlhkost, opatříme olivku alonže chlorkalciovou zátkou. Při destilaci hořlavých, jedovatých nebo silně těkavých kapalin se na olivku alonže nasazuje pryžová hadice, odvádějící nez kondenzované páry do bezpečného prostoru.



OBRÁZEK 11 DESTILAČNÍ APARATURA

### **11.3 Chromatografie**

„Chromatografie je analytická i preparativní dělicí metoda, při níž se dosahuje rozdělení látek na základě jejich rozdílné migrace v systému dvou fází – zakotvené neboli stacionární a pohyblivé neboli mobilní. K rozdílům v migraci dochází na základě rozdílné absorpce, rozdělování, výměny iontů, efektu molekulárního síta apod..Často se však jednotlivé mechanismy překrývají a kombinují. Síly, které se při tom uplatňují, jsou povahy fyzikální (elektrostatické interakce mezi ionty a dipóly,  $\pi$ -interakce, van der Waalsovy síly apod.)i chemické.

Stacionární fáze může mít několik forem. Může být představována částčkami pevné hmoty (prášek nebo pevná materiál) nebo kapalinou zachycenou na inertním nosiči. Jakákoliv forma stacionární fáze bývá nazývána sorbent. Stacionární fází protéká fáze mobilní ve formě kapaliny nebo plynu. Podle skupenství mobilní fáze rozdělujeme chromatografii na kapalinovou a plynovou. Chromatografii dále můžeme dělit podle způsobu provedení a to buď na chromatografii sloupcovou (plynová a kapalinová sloupcová) nebo na chromatografii v plošném uspořádání (chromatografie na papíře a na tenké vrstvě).“<sup>8</sup>

#### **11.3.1 Sloupcová chromatografie**

„Zkoumané látky putují sloupcem. Postupně se dělí do zón. Při preparativním dělení se získávají frakce mobilní fáze vzájemně izolované fází stacionární. Při analytickém dělení zaznamenáváme změnu koncentrace s časem nebo objemem proteklé mobilní fáze. Každá látka utváří charakteristický pík. Plocha píku udává koncentraci. Pokud potřebujeme potvrdit identitu některé složky, provedeme tzv. směsný chromatogram. Do analyzované směsi přidáváme složku, jejíž přítomnost chceme potvrdit, a provedeme chromatografii znovu. Pokud je složka identická s látkou přidanou, zvětší se plocha píku, pokud identická není, vytvoří se pík nový.

---

<sup>8</sup> Gasparovič, J. Churáček, J.: Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin, 1. vydání Praha: SNTL, 1981. str. 8

### **11.3.2 Chromatografie v plošném uspořádání**

Analyzované látky putují po chromatogramu v podobě skvrn a detekují se vhodnou fyzikální, chemickou nebo biologickou metodou. Při preparativní chromatografii putují látky v podobě pásů(pruhů), které je možno mechanicky oddělit a jednotlivé složky po extrakci izolovat. Výhodou plošného uspořádání je, že můžeme spolu se vzorkem chromatografovat téměř libovolný počet autentických sloučenin pro potvrzení identity jednotlivých složek směsi. Každá sloučenina má svou charakteristickou polohu skvrny a chování při detekci. Intenzita zabarvení skvrny je závislá na množství sloučeniny. Další výhodou plošného uspořádání je možnost tzv. dvojrozměrné chromatografie.

## **12 Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)**

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC, thin layer chromatography) může být typu kapalina-kapalina nebo kapalina-tuhá látka. V obou případech je mobilní fází kapalina. Stacionární fází je v případě **TLC** chromatografie buď kapalina zakotvená v tenké vrstvě na podložním materiálu nebo pevná látka (adsorbent) v podobě tenké vrstvy. Používanými mobilními fázemi jsou například: cyklohexan, isopropanol, aceton, voda, toluen a pod. Stacionárními fázemi mohou být: silikagel, oxid hlinitý, iontoměniče a pod. Jako podložní materiál se pro stacionární fáze používají skleněné desky nebo hliníkové fólie.

Analýza TLC se provádí následně. Na tenkou vrstvu nebo chromatografický papír se na startovní místo nanese kapka analyzované směsi. Tenká vrstva (papír) se jedním koncem ponoří do mobilní fáze, tak, aby startovní pozice kapek analytu zůstaly nad hladinou mobilní fáze. Mobilní fáze vzlíná tenkou vrstvou přičemž dochází k transportu a dělení analyzované směsi. Analýza se ukončuje, když čelo mobilní fáze dorazí do blízkosti protilehlého konce tenké vrstvy (papíru). Čelo mobilní fáze je označeno a tenká vrstva (papír) je vysušena. Vysušená vrstva, na které jsou patrné skvrny jednotlivých složek směsi v různé vzdálenosti od startu představuje chromatogram této metody.

### 12.1.1 Papírová chromatografie

Při papírové chromatografii dochází k separaci látek při průtoku rozpouštědla chromatografickým papírem. Na chromatografický papír v určité vzdálenosti od okraje vyznačíme tzv. start. Na něj vyznačíme body pro nanášení vzorků. Na tyto body nanese roztoky vzorků a necháme odpařit rozpouštědlo. Po vysušení umístíme chromatogram do chromatografické komory nasycené stacionární i mobilní fází a provedeme vyvíjení. Papír můžeme zavěsit do lodičky s rozpouštědlem a nechat jej protékat směrem dolů (chromatografie sestupná) nebo jej v komoře upevnit tak, aby spodní okraj byl sočen v rozpouštědle, které bude vzlínat vlivem kapilárních sil vzhůru a unášet s sebou jednotlivé složky na základě jejich rozpustnosti (chromatografie vzestupná). Jakmile čelo mobilní fáze dosáhne určité vzdálenosti od startu, vyjmeme chromatogram z komory a čelo vyznačíme. Chromatogram necháme vyschnout. Po vytékání mobilní fáze následuje detekce skvrn. Polohu skvrny vyjadřuje tzv. hodnota RF. Je to poměr vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenosti čela rozpouštědla od startu. Hodnota RF je pro každou sloučeninu za daných podmínek charakteristická.<sup>9</sup>

### 12.1.2 Detekce

Detekce je závěrečným krokem chromatografie. S potížemi se setkáváme u sloučenin alifatického charakteru, které nemají funkční skupiny, anebo je mají málo reaktivní (např. halogenderiváty uhlovodíků). Jestliže látka obsahuje funkční skupiny, které neumožňují citlivou detekci, snažíme se z látky připravit k detekci vhodný derivát. Často také bývá zaváděna barvotvorná skupina přímo do molekuly. Jednotlivé způsoby detekce můžeme rozdělit do 4 skupin:

- Fyzikální metody: Chromatogram pozorujeme na denním světle a zaznamenáváme barevné skvrny. Pak jej pozorujeme v ultrafialovém záření.

---

<sup>9</sup> Gasparovič, J. Churáček, J.: Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin, 1. vydání Praha: SNTL, 1981. str. 11 – 16.

Některé látky fluoreskují, některé látky naopak na fluoreskujícím papíře fluorescenci zhášejí.

- Chemické metody: Jsou založeny na reakci sloučeniny na chromatogramu s detekčním činidlem za vzniku barevné či fluoreskující skvrny. Činidlo aplikujeme v kapalně nebo plynné podobě. Po postřiku necháme chromatogram oschnout a zahříváme jej v sušárně až do vzniku barevných skvrn. Pro výběr vhodného detekčního činidla je vhodné nanést vzorek několikrát vedle sebe, provést chromatografii, papír rozstříhat na proužky a každý z nich detekovat jiným činidlem.
- Biologické metody: využívá se při nich biologické aktivity chromatografovaných látek (např. antibiotik, enzymů).
- Jiné aplikační zkoušky: Využívá se při nich určitých technologických vlastností chromatografovaných látek (např. schopnost zabraňovat korozi, působit antioxidanty...)

### 12.1.3 Hodnoty $R_F$

„Každá sloučenina má v daných podmínkách charakteristickou rychlost migrace, určující její polohu na chromatografu. K vyjádření rychlosti migrace se používají tzv. hodnoty  $R_F$  (retardien factor). Je to poměr vzdálenosti středu (těžiště) skvrny od startu a vzdálenosti čela rozpouštědla od startu. Tzn., že se hodnoty  $R_F$  pohybují od 0 do 1, pro látky u startu se blíží 0, pro látky u čela se blíží 1. Řada autorů používá stonásobek hodnot  $R_F$ , tzn. hodnoty  $hR_F$ , tj. celá čísla v rozmezí od 0 do 100. Někdy nedovoluje tvar skvrny odhadnout správně střed skvrny a je nutné měřit od jejího předního nebo zadního okraje, což je třeba vždy výslovně uvést. Když nelze zjistit čelo rozpouštědla (např. při vyvíjení na přechtení), používají se tzv. hodnoty  $R_X$ , vyjadřují polohu látky k látce X, jejíž  $R_F$  jsme položili rovno 1. Místo indexu X se potom uvádí název nebo zkratka této látky, např. Rglc.. $R_X$  je tedy poměr vzdálenosti určité látky od startu a vzdálenosti látky X od startu. Hodnoty  $R_F$  by sice měly být při přesném dodržování experimentálních podmínek reprodukovatelné, avšak ovlivňuje je tolik faktorů (teplota, změny ve složení mobilní fáze způsobené chybami v odměřování nebo jejím stárnutím, obsah zakotvené fáze v papíře, vzdálenost startu

od hladiny rozpouštědla, druh papíru, stupeň sycení komory, způsob vyvíjení, přítomnost dalších látek ve směsi..)

I přes tyto nedostatky má určování hodnot RF svůj význam. Informuje nás o chování chromatografované sloučeniny v soustavě, ukazuje vhodnost soustavy a účinnost o zákonitosti dělení látek. Porovnáním vzorku se standardy můžeme velmi dobře určit, o kterou látku se jedná. K určení hodnot RF můžeme používat jednoduché pomůcky- např. pryžový pásek se stupnicí od 0 do 1, který natáhneme od startu k čelu chromatogramu a změříme střed skvrny. Podobnou pomůckou je trojúhelník z průhledného materiálu, který podle potřeby posunujeme.“<sup>10</sup>

---

<sup>10</sup> Gasparovič, J. Churáček, J.: Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin, 1. vydání Praha: SNTL, 1981. str. 11

## 13 IČ SPEKTROFOTOMETRIE

### 13.1 IR spektrofotometrie

„Infračervená spektrofotometrie je analytická metoda založená na schopnosti látky absorbovat elektromagnetické vlnění o vlnových délkách ( $\lambda$ ) 800 nm až 1 nm), které označujeme jako infračervené záření. Infračervené záření dělíme na blízké (1000 až 20 nm, resp. 20 až 500  $\text{cm}^{-1}$ ), střední (20 až 2,5 nm, resp. 500 až 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), které má největší význam pro určování struktury, a daleké.

Když molekuly měřené látky absorbují infračervené záření, dochází ke zvýšení jejich vibrační (v plynné fázi také rotační) energie. Infračervená absorpční spektra tak poskytují informaci o vibračních pohybech molekuly. Ty jsou pro ni charakteristické, a proto lze spekter využít při identifikaci látek a určování struktury.

Vibrační pohyb je v nejjednodušším případě dvouatomové molekuly možno přibližně popsat modelem harmonického oscilátoru. Přitom se předpokládá, že oba atomy molekuly na sebe působí ve směru vazby silou přímo úměrnou odchylce délky vazby od rovnovážné polohy. Absorpce elektromagnetického záření je důsledkem jeho interakce s oscilujícím dipólem. Intenzita, s jakou se ve spektru objeví vibrace dvouatomové molekuly, proto závisí na změně dipólového momentu molekuly při prodloužení, resp. zkrácení vazby. Dipól v molekule HBr způsobuje, že tato molekula absorbuje infračervené záření, naproti tomu molekula kyslíku  $\text{O}_2$  dipólový moment nemá a ani ho nezíská prodloužením nebo zkrácením vazby. Proto tato molekula nebude absorbovat infračervené záření.

Na  $n$ -atomovou molekulu lze pohlížet jako na soubor několika nezávislých harmonických oscilátorů, z nichž každý kmitá s odlišnou frekvencí. Mohutnost absorpce infračerveného záření závisí stejně jako u dvouatomové molekuly na změně dipólového momentu molekuly při prodloužení, resp. zkrácení vazby. U symetrických molekul se proto může stát, že některá vibrace není v IČ aktivní, tzn. že se neprojeví ve spektru odpovídajícím absorpčním pásem. Amplitudy výchylek jednotlivých atomů molekuly jsou pro jednotlivé normální vibrace různé, často však můžeme vibrační pohyb molekuly při normální vibraci lokalizovat na určitou funkční skupinu nebo vazbu. Takové skupiny nebo vazby jsou potom ovlivňovány ostatními

atomy v molekule jen v malé míře. Poloha absorpčních pásů a jejich intenzita, kterými se projeví v IČ spektru, se příliš neliší, je-li tato funkční skupina vázána v různých molekulách. Tato skutečnost umožnila sestavit tabulky vlnočtů charakteristických vibrací důležitých skupin a vazeb. Tyto tabulky se používají pro identifikační účely. Podle toho, která souřadnice se nejvíce uplatňuje v normálních souřadnicích, rozeznáváme různé typy vibrací. Mění-li se při vibraci především délky vazby, hovoříme o valenční vibraci, při změně úhlů se jedná o deformační vibraci, kmitá-li nějaký atom mimo rovinu ostatních atomů, jedná se o mimorovinnou vibraci.”<sup>11</sup>

### **13.1.1 Infračervený spektrometr**

Infračervený spektrometr je přístroj umožňující měřit závislost absorpčních vlastností vzorku na vlnočtu v oblasti IČ záření. Zdrojem záření je keramická tyčinka, která při zahřátí na 1000 °C emituje spojitě záření v infračervené oblasti. Výsledkem je infračervené spektrum látky, tj. závislost procentické propustnosti (tj. transmitance) nebo absorpance na vlnočtu nebo vlnové délce. Oblasti spekter označujeme jako absorpční pásy. Obvykle je charakterizujeme polohou maxima a relativní intenzitou.

### **13.1.2 Závislost na experimentálních podmínkách**

Většina organických, ale i anorganických látek vykazuje v IČ spektru intenzivní absorpci. Podle Lambertova-Beerova zákona je absorpance přímo úměrná koncentraci aktivní látky a tloušťce měřené vrstvy roztoku. Musíme proto měřit velmi tenké vrstvy látek (řádově 0,1 až 0,01 nm) nebo látku rozpustit a naředit vhodným rozpouštědlem. Organická rozpouštědla používaná v IČ oblasti musí být propustná v co nejširším rozsahu spektra. Tento požadavek splňuje pouze několik organických rozpouštědel, například chlorid uhličitý (CCl<sub>4</sub>), sirouhlík (CS<sub>2</sub>), chloroform (CHCl<sub>3</sub>). Všechna rozpouštědla mají vlastní absorpci, a proto pro získání úplného spektra musíme kombinovat měření v různých rozpouštědlech. Látky nerozpustné v organických rozpouštědlech lze měřit metodou suspenze v parafinovém oleji, metodou KBr tablety nebo technikou difúzní reflexe.

---

<sup>11</sup> Němcová, I., Cermáková L., Rychlovský, P.: Spektrometrické analytické metody, Praha, Karolinum 2004.



### 13.1.3 Informace vyplývající z IČ spektra o struktuře látky

Infračervené spektrum má z hlediska kvalitativní analýzy látek dvě významné vlastnosti: Ve svých detailech je charakteristické pro jednotlivé látky, takže prakticky neexistují dvě sloučeniny, které by měly zcela shodné IČ spektrum. Pomocí IČ spektra můžeme identifikovat danou látku použitím knihoven spekter. Jednotlivé funkční skupiny se projevují ve spektru podobně, a tak lze rozbořením IČ spektra zjistit přítomnost konkrétních funkčních skupin v molekule a též vyloučit výskyt jiných funkčních skupin. Pro nalezení funkčních skupin v molekule potřebujeme tabulky vlnočtů charakteristických vibrací (viz níže). V tabulkách jsou pro každou funkční skupinu na základě empirických zkušeností uvedeny intervaly vlnočtů, ve kterých se daná funkční skupina musí projevit absorpcí a dále relativní intenzita příslušného absorpčního pásu. Šířka intervalů vlnočtů je ovlivněna zbytkem molekuly. Některé skupiny jsou charakterizovány několika absorpčními pásy, jiné pouze jedním. Má-li být daná funkční skupina prokázána, musí být nalezeny všechny absorpční pásy, které ji charakterizují, a zároveň by měly odpovídat intenzitě jednotlivých absorpčních pásů. Naopak z nepřítomnosti pásů v určitých oblastech lze přítomnost některých funkčních skupin nebo vazeb vyloučit.

### 13.1.4 Vlnočty charakteristických vibrací některých důležitých vazeb a skupin

vlnočet [ $\text{cm}^{-1}$ ]	funkční skupina	poznámka
3400–3200	alkohol, O–H	široký pás o silné intenzitě
3500–3300	amin, N–H	úzký pás o malé intenzitě
3350–3260	alkin, $\equiv\text{C}-\text{H}$	úzký pás o střední intenzitě
3080–3020	alken, $=\text{C}-\text{H}$	úzký pás o střední intenzitě
3400–2400	karboxylová kyselina, $-\text{OH}$	široký pás o střední intenzitě, překrývá se s C–H absorpčními pásy alkanu
2820–2800 2720–2700	$\alpha$ H–C v H–C=O	dva ostré pásy o střední intenzitě

vlnočet [cm <sup>-1</sup> ]	funkční skupina	poznámka
2250–2100	alkin, $-C\equiv C$	úzký pás o střední až malé intenzitě

## 14 Antimikrobiální účinky arbutinu

Arbutin je látka, která zamezuje dalšímu množení bakterií a jejich růstu.

### 14.1 Bakterie

„Bakterie (Bacteria, dříve též Bacteriophyta či Schizomycetes), nebo také eubakterie (*Eubacteria*), je doména jednobuněčných prokaryotických organismů. Mívají kokovitý či tyčinkovitý tvar a zpravidla dosahují velikosti v řádu několika mikrometrů. Studium bakterií se zabývá bakteriologie, významně tuto vědu rozvinuli Robert Koch a Louis Pasteur.

Typickou součástí bakteriálních buněk je peptidoglykanová buněčná stěna, jaderná oblast (nukleoid), DNA bez intronů, plazmidy a prokaryotický typ ribozomů. U bakterií se nevyskytuje pohlavní rozmnožování, namísto toho se nejčastěji dělí binárně. Bakterie jsou nejrozšířenější skupinou organismů na světě. Dříve se druhy bakterií klasifikovaly podle vnějšího vzhledu, dnes jsou moderní zejména genetické metody. Díky nim se dnes rozlišuje asi 25 základních kmenů bakterií.

Bakterie mají velký význam v planetárním oběhu živin a mnohdy vstupují do oboustranně prospěšných svazků s jinými organismy. Mnohé patří mezi komenzálické druhy, které žijí například v lidské trávicí soustavě. Na druhou stranu je známo i mnoho patogenních bakterií, tedy druhů, které způsobují infekce. I člověk mnohé z bakterií využívá, například v potravinářském a chemickém průmyslu. Vědci využívají bakterie ve výzkumu. Navenek je nejnapadnějším rysem bakterií tvar bakteriálních buněk a jejich kolonií.

U bakterií se rozlišují následující typy buněk dle tvaru:

1) **Kulovité bakterie neboli koky**. Bývají různým způsobem uspořádány v závislosti na tom, v jakých rovinách se dělí a zda po rozdělení zůstanou spojeny.

Podle toho rozeznáváme:

- diplokoky – dvojice koků
- streptokoky – koky seskupené řetízkovitě
- tetrakoky – čtveřice koků
- stafylokoky – koky uspořádané hrozníčkovitě
- koky uspořádané do seskupení krychlovitého tvaru ( tzv. balíčky- SARCINIE)

2) **Bakterie tyčinkovitého tvaru**. Bývají obvykle označovány jako tyčky nebo tyčinky. Tvoří charakteristická seskupení jako koky, a proto i u nich rozeznáváme:

- diplobakterie – dvojice bakterií
- streptobakterie – řetízky bakterií
- palisádové seskupení bakterií

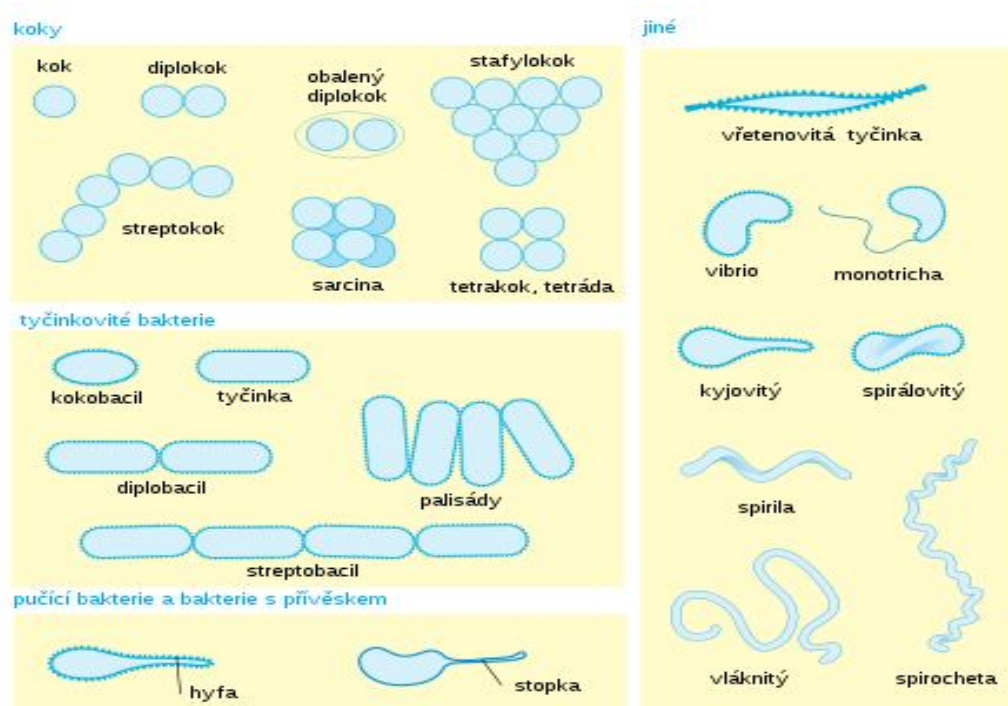
3) **Zakřivené bakterie**. Zde rozeznáváme:

- vibria – lehce ( rohlíkovitě) zakřivené tyčinky
- spirily – lehce zvlněné tyčinky
- spirochety – tyčinky šroubovicovitého tvaru

4) **Vláknité bakterie** . Jsou bakteriální buňky ve tvaru dlouhých tenkých vláken

5) **Větvící se bakteriální buňky**. Některé bakteriální buňky (aktinomycety) se větví buď úplně (např. Streptomyces), nebo se projevují náznaky větvení (např. mykobakterie nebo korynebakterie). Úplně větvící se buňky (Streptomyces) vytvářejí mycelium.

Některé bakterie vytvářejí kolonie podobné tělu jednoduchých mnohobuněčných eukaryot. Patří k nim některé sinice (např. *Anabaena*), myxobakterie (Myxococcales) a mnohé další skupiny. Druhé jmenované bakterie dokonce tvoří za určitých podmínek makroskopické plodničky se sporama uvnitř.<sup>12</sup>



OBRÁZEK 12 DRUHY BAKTERIÍ

#### 14.1.1 Gramnegativní a grampozitivní bakterie

„Pro klasifikaci bakterií má význam jejich rozlišení na grampozitivní a gramnegativní. Rozdíl mezi oběma skupinami spočívá v tom, že grampozitivní bakterie po obarvení trifenylnetanolovým barvivem (krystalová violet) a moření roztokem jodidu draselného (Lugolův roztok) zadržují komplex krystalové violeti a jodidu draselného v buněčné stěně a neodbarvují se organickými rozpustily (etanol nebo aceton), kdežto u gramnegativních bakterií se tento komplex z buněčné stěny etanolem nebo acetonem vymývá. Jestliže se po odbarvovacím procesu (vymývání etanolem) použije druhé barvivo (světlejší než původní, např. safranin), zbarví se gramnegativní bakterie červeně a grampozitivní zůstávají zbarveny fialově. Tyto rozdíly souvisí se

<sup>12</sup> Rozsypal, S.: Přehled biologie, Scientia, Praha 1998.

složením buněčné stěny. Grampozitivní bakterie mají buněčnou stěnu tvořenou tenkou, ale pevnou peptidoglykanovou vrstvou (mureinem), nad kterou se nachází ještě vnější třívrstevná membrána složená z proteinů, lipopolysacharidů a lipoproteidů.<sup>13</sup>

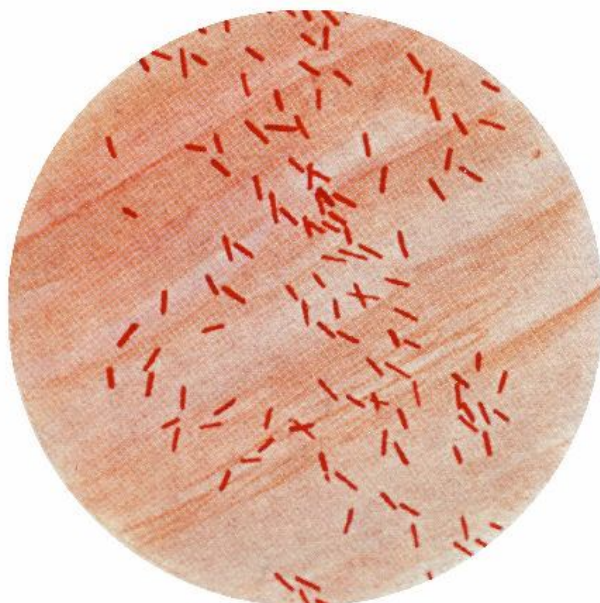
**Bakteriostatický účinek** - Tyto látky zastavují množení jednotlivých bakteriálních buněk v organismu hostitele, ale přitom neničí bakterie.

**Baktericidní účinek**- Tyto látky ničí bakteriální buňky in vitro a in vivo.

---

<sup>13</sup> Rozsypal, S.: Přehled biologie, Scientia, Praha 1998.

## 15 ESCHERICHIA COLI



OBRÁZEK 13 *ESCHERICHIA COLI* V KREVNÍM AGARU

„*Escherichia coli* je běžný komenzál tlustého střeva. Fekálním znečištěním se dostává do vody, kde může přežít řadu týdnů. Slouží jako nejběžnější indikátor fekální kontaminace pitné vody.

Jde o gramnegativní tyčky se zaoblenými konci, 2-3  $\mu\text{m}$  dlouhé, 0,6  $\mu\text{m}$  široké, někdy mohou být krátké - kokobacilární, barví se homogenně. Na povrchu mají různé typy fimbrií, z nichž jedny jsou zastoupeny ve velkém počtu na povrchu bakteriální buňky a umožňují adhezi na hostitelskou buňku, další - sex pili, jsou v menším počtu a umožňují vazbu mezi donorem a recipientem při konjugaci. Některé typy *E. coli* tvoří pouzdra a jejich kolonie mají hlenovitý charakter.



OBRÁZEK 14 *ESCHERICHIA COLI* POD MIKROSKOPEM

### 15.1 Antigenní struktury

Podle antigenní struktury se dělí na sérotypy. Somatických (O) antigenů je 167. K nim se váží K a H antigeny, takže jejich kombinací vzniká 240 sérotypů. Kapsulární antigeny se dělí podle chemického složení na ty, které jsou tvořeny kyselými nebo neutrálními polysacharidy, a na ty, které se skládají z bílkovin a tvoří struktury podobné fimbriím.

### 15.2 Patogenita

Patogenní *Escherichia coli* vyvolává 2 typy onemocnění:

- extraintestinální (zejména močových cest, septická onemocnění, infekce ran, hnisavé procesy)
- v intestinálním traktu infekce provázené průjmy (určité kmeny)

Extraintestinální formy jsou vyvolány převážně komenzálními sérotypy a infekce je často endogenní. Mohou se uplatnit ty kmeny, které vzdorují baktericidii séra a fagocytóze, tj. mají polysacharidový kapsulární antigen; v močovém traktu ty, které mají tzv. P fimbrie, jimiž adherují na sliznici močových cest (uropatogenní *E. coli*). *E. coli* je pyogenní bakterie. V zažívacím traktu se určité kmeny *E. coli* uplatňují jako patogeny různými mechanismy, podle kterých se skupiny těchto tzv. enteropatogenních kmenů *E. coli* označují jako:

- enteropatogenní v užším slova smyslu (EPEC)
- enterotoxigenní (ETEC)
- enteroinvazivní (EIEC)
- enterohemoragické (EHEC)

#### **15.2.1 Enteropatogenní E. coli - EPEC**

Jsou vyvolavateli novorozeneckých průjmů. Dochází k dehydrataci při vodnatých průjmech, případně i k smrti. V rozvinutých zemích infekcí ubylo, jsou však problémem v rozvojových zemích. U větších dětí a u dospělých onemocnění nevyvolávají. Bylo prokázáno, že schopnost vyvolat tyto novorozenecké průjmy je vázána pouze na některé sérotypy, které kolonizují tenké a tlusté střevo. Jejich identifikace se opírá o sérotypizaci. U EPEC kmenů nebyla prokázána tvorba enterotoxinů. Infekce EPEC kmeny je spojena s charakteristickými ultrastrukturálními změnami v epiteliálních buňkách tenkého střeva, které jsou patrné jen na elektronoptických snímcích. Podstatou je úzká vazba bakterií s enterocyty.

#### **15.2.2 Enterotoxigenní E. coli – ETEC**

Kolonizují tenké střevo pomocí kolonizačních faktorů, což jsou proteinové fimbrie, které jsou druhově specifické (pro člověka, pro selata, pro telata). Enterotoxigenní kmeny mohou vyvolat průjmy jak u dětí, tak i u dospělých. Vyskytují se převážně endemicky v teplých oblastech (Mexiko, Bangladéš, Egypt), do střední Evropy se dostávají při návratu cestovatelů (cestovatelské průjmy). ETEC kmeny mohou produkovat 2 typy enterotoxinů, a to termolabilní enterotoxin (TL) podobný svou strukturou a stejným mechanismem účinku jako cholergen a termostabilní enterotoxin (TS). Genetická informace pro tvorbu enterotoxinů je vázána na plasmidech. Tvorba enterotoxinů je u některých sérotypů častější, ale vazba mezi tvorbou enterotoxinu a sérotypem je volná.



### **15.2.3 Enteroinvasivní E. coli – EIEC**

Mají podobný mechanismus patogenity jako shigely, tj. pronikají do buněk a v nich se množí. Onemocnění probíhá pod obrazem bacilární dysenterie.

### **15.2.4 Enterohemoragické E. coli – EHEC**

Mají podobný mechanismus adherence jako enteropatogenní, ale váží se převážně v tlustém střevě. Navíc jsou producenty toxinu, který se označuje jako podobný shigelovému (shigalike toxin) nebo verotoxin (změny se projevují zejména v buněčných kulturách buněk VERO). Izolují se ze sporadických nebo epidemických onemocnění hemoragickou kolitidou, u některých nemocných se vyvine hemolytickouremický syndrom (HUS). Zdrojem infekce je nejčastěji infikované hovězí maso. Onemocnění se vyskytuje v dětském věku, a to nejen v rozvojových zemích. U hemolytickouremického syndromu jde o mikroangiopatickou hemolytickou anemii s trombotizací, primárně jsou poškozeny endotelie. Onemocnění je často smrtelné. Verotoxiny jsou dvou antigenních typů, ale mechanismus toxicity je stejný. Produkce toxinů je vázána na bakteriofága. Průkaz kmenů tvořících verotoxin se opírá o změny v buněčných kulturách nebo o genetické sondy. Většina kmenů je odlišná biochemicky (neštěpí sorbitol). Toxin může být prokázán přímo ve filtrátu stolice. Proti verotoxinu se tvoří neutralizační protilátky. Kmeny byly zachyceny i v České republice.<sup>14</sup>

### **15.2.5 Léčba**

E. coli je citlivá primárně na většinu antibiotik (s výjimkou benzylpenicilinu), ale zejména nemocniční kmeny mají sekundární rezistenci přenosového typu. Terapie extraintestinálních infekcí spočívá v léčbě antibiotiky, u intestinálních forem je nutno dbát na rehydrataci.

---

<sup>14</sup> Kaprálek, F. : Základy bakteriologie, Karolinum, Praha 1999.

## 16 STAPHYLOCOCCUS AUREUS



OBRÁZEK 15 *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* V KREVNÍM AGARU

„Je gram pozitivní, nesporulující, nepohyblivé koky o průměru 1mm, v nepravidelných shlucích. Lze však spatřit i dvojice nebo zcela krátké řetízky. Některé kmeny jsou opouzdřené. Stěnový murein je tvořen pentaglycinovými můstky, kde specificky působí lysostafin. Kolonie jsou okrouhlé, hladké, lesklé o průměru 3-4mm, karotenovými pigmenty slabě oranžově zbarvené, řidčeji žluté, někdy i bílé nebo šedé. Na krevním agaru asi 60% kmenů tvoří zónu  $\beta$ -hemolýzy.

Stafylokoky jsou fakultativně anaerobní, nenáročné, osmoticky resistantní; rostou i na půdě s obsahem 7,5% NaCl. Okyselují glukosu a manit. Přenos genetické informace transdukcí, byl prokázán i in vivo. Zejména kmeny izolované z nemocničního prostředí obsahují plasmidy dvojího typu:

- velký plasmid o hmotnosti 2.107 daltonů, jehož replikace je řízena chromosomem a determinuje produkci penicilinázy a resistenci k erytromycinu
- plasmid 3.106 daltonů nese resistenci k tetracyklinům a chloramfenikolu.

## 16.1 Patogenita

St.aureus produkuje řadu enzymů a toxinů, jež se uplatňují v patogenezi stafylokokových onemocnění.

- **plasmakoaguláza** - je určujícím znakem druhu; konvertuje fibrinogen na fibrin; volná koaguláza se uvolňuje do prostředí. Kmen naočkovaný do plasmy ji do hodiny zkoaguluje. Vázaná koaguláza, tzv. shlukovací faktor sráží fibrin na povrchu stafylokové buňky a aglutinuje je. Test na podložním sklíčku se běžně provádí pro diagnosu druhu.
- **stafylokináza** - přeměňuje plasminogen na plasmin, podporuje šíření infekce do okolí
- **hyaluronidáza** - hydrolyzuje k. hyaluronovou, umožňuje šíření infekce
- **hemolysin alfa** - vyvolává nekrózu kůže po intradermální aplikaci, po i.v. aplikaci má letální účinek zřejmě i u člověka, protilátky nejsou protektivní
- **hemolysin beta** - sfingomyelináza C, zesiluje účinnost hemolysinu delta, antagonizuje hemolysin alfa; vyvolává "hot-cold" hemolýzu - při změně teploty inkubace /37°C » 10°C/. Produkují ji kmeny bovinního původu. V lidské patologii bez významu.
- **hemolysin delta** - je inhibován sérovými fosfolipidy
- **hemolysin gama** - je imunogenní
- **leukocidin** - narušuje permeabilitu membrány polymorfonukleárů, monocytů a makrofágů
- **toxin syndromu toxického šoku** - vede k nadprodukci cytokinů; je pyrogenní, inhibuje syntézu makromolekul v endoteliích, snižuje clearance LPS v játrech
- **enterotoxiny** - termostabilní bílkoviny, lokální neurotoxiny » zvracení, příznaky z dráždění CNS

- **exfoliatiny** - poškozují stratum spinosum a stratum granulosum epidermis - tvorba intradermálních puchýřů; kůže se odlupuje v cárech - syndrom opařené kůže
- **enzymy** (fosfatázy, lipázy, proteázy ) - mohou hrát roli v infekčních procesech<sup>15</sup>

## 16.2 Onemocnění

Infekce kůže - folikulitis, furunkly, karbunkly, panaricium, exfoliativní dermatitis /3 formy/: bulózní impetigo, rašový typ tox. epidermolýzy, syndrom opařené kůže /Ritterova nemoc/

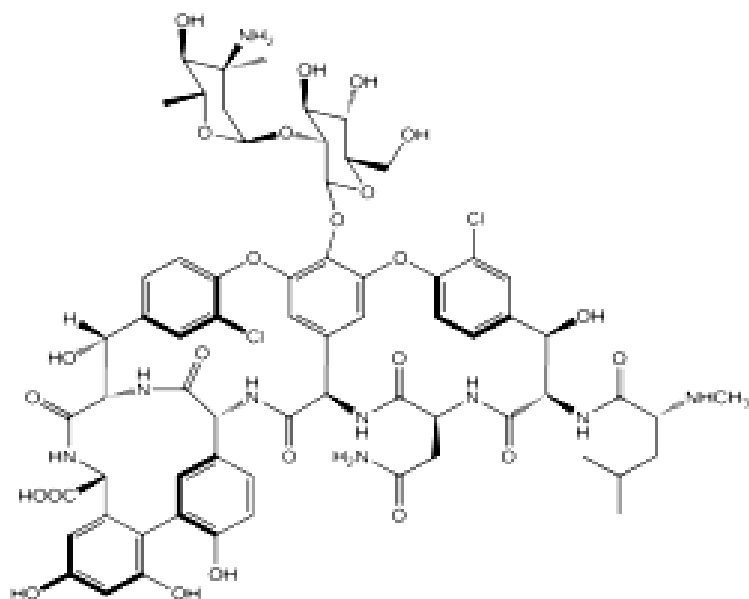
- Ranné infekce
- Puerperální mastitis
- Sepse
- Pneumonie
- Osteomyelitis
- Arthritis
- Toxický šokový syndrom
- Enterotoxikóza

## 16.3 Léčba

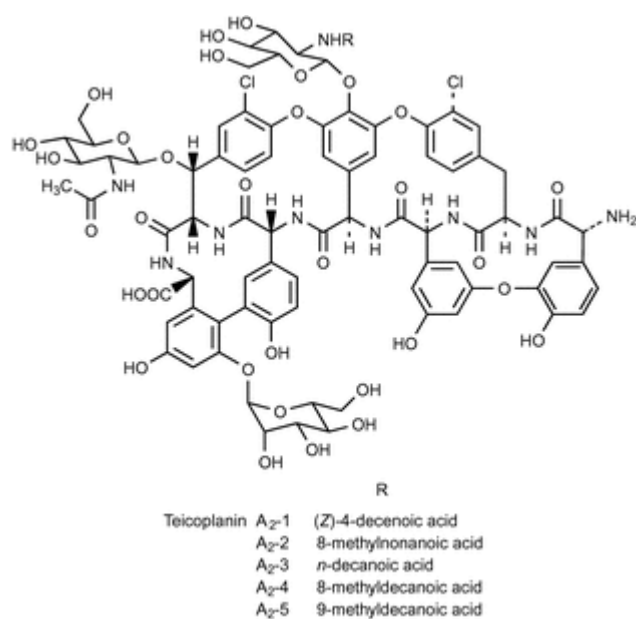
- oxacilin, peniciliny resistantní k penicilináze
- u methicilin resistantních kmenů - vankomycin, teikoplanin

---

<sup>15</sup> Kaprálek, F. : Základy bakteriologie, Karolinum, Praha 1999



OBRÁZEK 16 ANTIBIOTIKUM VANKOMYCIN



OBRÁZEK 17 ANTIBIOTIKUM TEICOPLANIN

## 16.4 Antibakteriální látky

„Cílem antibakteriálních látek je zničit původce onemocnění nebo alespoň omezit jeho růst a pokud možno při tom nepoškodit hostitelský organismus. Jsou- li uměle syntetizovány, hovoříme o **chemoterapeutikech**, pokud to jsou (alespoň primárně) produkty metabolismu „mikroorganismů“, nazývají se **antibiotika**.

### **16.4.1 Antibiotika**

„Až do začátku novověku byly jako součást některých léků (především na zevní aplikaci) používány složky, mající antibakteriální účinky. Jednalo se především o látky rostlinného původu (např. cibule, česnek, některé aromatické byliny nebo i koření). Empiricky bylo zjištěno, že některé z těchto látek pomáhají u hnisajících poranění. Určitou rehabilitaci prošly v uplynulých desetiletích i receptury využívající tělesného tuku drobných zvířat (králík, zajíc, bobr apod.), protože byl objeven antibakteriální účinek mastných kyselin s krátkým řetězcem, a ty jsou právě v tělesném tuku těchto zvířat hojněji zastoupeny.

První cílená léčba chemickými prostředky byla Paracelsem propagovaná (a snad i vyvinutá) šedá mast na syfilitické vředy. Jejím základem byla suspenze rtuť v sádle. Dnes víme, že působila především celkově, kdy se rtuť přes rány částečně vstřebala a baktericidně působila na spirochety. Přestože nestačila na jejich kompletní zničení, postačovala k převedení infekce na mírněji probíhající formu.

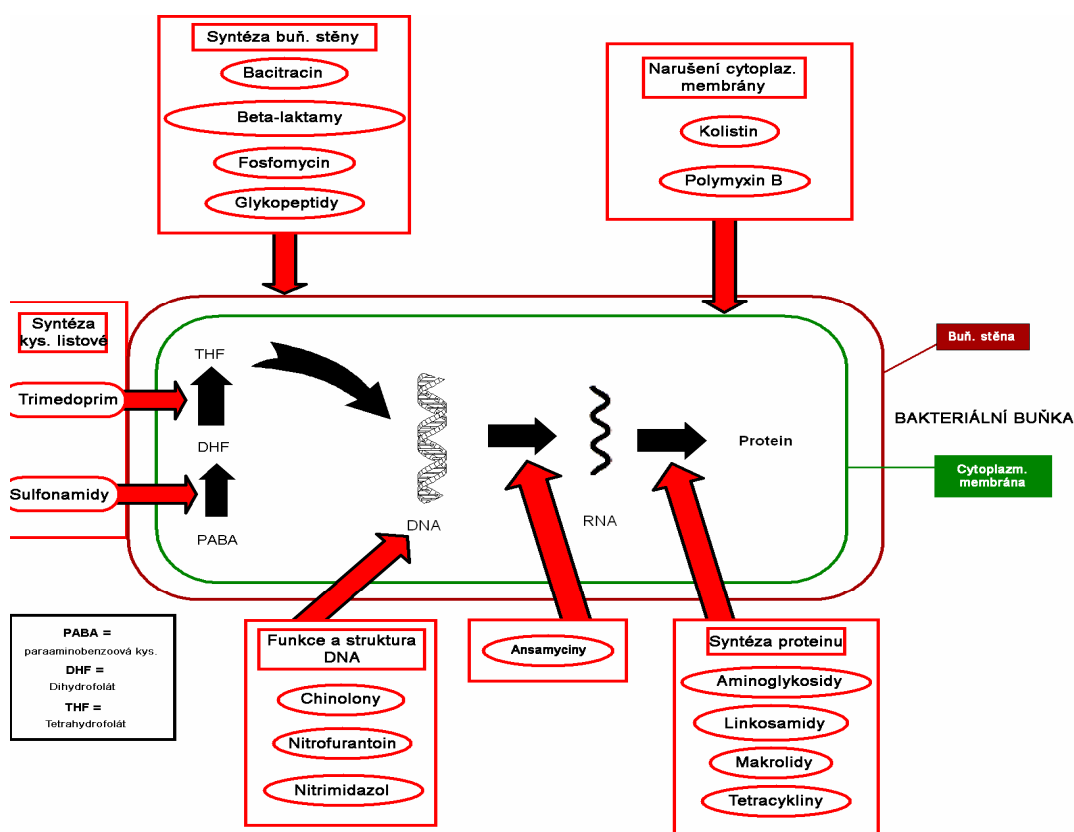
První léčebné použití antibiotika bylo popsáno českými badateli Honlem a Bukovským v roce 1899. Jednalo se o extrakt z kultury *Pseudomonas aeruginosa* obsahující pyocyanázu. Tento preparát byl lékopisný do konce druhé světové války.

Na přelomu 19. a 20. století Paul Ehrlich (1854 – 1915) cíleně pátral po chemických látkách (které většinou sám syntetizoval), toxických pro původce spavé nemoci, ale málo toxických pro člověka. Zpracoval více než 900 preparátů, které byly buď málo účinné, nebo příliš toxické pro pokusná zvířata. Jeho mladší spolupracovník Sahachiro Hata (1873 – 1938), v té době student, zpětně testoval tyto látky na účinky proti původci syfilis. U málo toxického preparátu č. 606 našel dostatečné účinky. Objev preparátu, užívaného pod názvem Salvarsan, byl publikován v roce 1910. Problémem byla nutnost jeho injekčního podávání a relativní rychlost, jakou po otevření originální ampule vznikaly v léku toxické oxidační produkty (vyvolávající mj. slepotu). Nicméně v klinickém použití byl Salvarsan vytlačen v podstatě až zavedením penicilínu po druhé světové válce.

Objev penicilínu byl publikován v roce 1928 Alexandrem Flemmingem (1881 – 1956), samotný objev proběhl na začátku 20. let 20. století. Objevenou baktericidní látku z plísní se dlouhou dobu nedařilo izolovat, až v průběhu 2. světové války, kdy

na její izolaci byla použita sloupcová chromatografie. Při léčení prvních pacientů byl penicilín reextrahován z jejich moče a znovu aplikován. Následně byl objev předán do USA, kde byly izolovány výkonnější produkční kmeny plísní, a v roce 1944 začal být masívně aplikován v klinické praxi (včetně léčby válečných zranění). Spolu s biochemikem Erntenem Chainem a patologem Howardem Floreyem obdržel A.Flemming v roce 1945 Nobelovu cenu. V okupovaném Československu byl na samém konci na základě neúplných informací z odborné literatury získávané přes neutrální státy vyvinut na bázi penicilínu preparát Mykoin B. Objev se podařilo utajit před okupačními orgány a byl předán oficiálními autoritám po osvobození. V Německu byly vyvinuty sulfonamidy, které byly masívně užívány k léčbě válečných poranění za druhé světové války. Pojem antibiotikum byl navržen v roce 1942.”<sup>16</sup>

#### 16.4.2 Mechanismus účinku – popis



OBRÁZEK 18 PŮSOBNÍ ANTIBIOTIK V BUŇCE

<sup>16</sup> Lefnerová, D., Šimunek, J.: Antibiotika, Doplnkový výukový text z mikrobiologie pro studium výživy člověka, Lékařská fakulta MU Brno, Brno 2004.

Podle cílových struktur, které ovlivňují, a podle způsobu jejich účinku lze chemoterapeutika a antibiotika rozdělit do různých skupin.

baktericidní	bakteriostatické
peniciliny	tetracykliny
cefalosporiny	makrolidy
kotrimoxazol	sulfonamidy
Inhibitory gyrázy	diaminopyrimidin
aminoglykosidy	

## **16.5 Peniciliny**

„Penicilin je antibiotikum vyskytující se v různých obměnách, které se získává z kultivačního média vhodných kmenů plísní, např. *Penicillium notátám*. Různé formy původně získávaných penicilínů se rozlišovaly písmeny, např. penicilin G ( = benzylpenicilin) a penicilin V ( = fenoxymethylpenicilin). Syntéza penicilínů se sice zdařila, z ekonomických důvodů se však původní způsob jejich výroby naopouští. Z kultur *Penicillium chrysogenum* lze získat kyselinu 6-aminopenicilanovou, která se stala výchozí látkou pro syntézu četných penicilínů se zvláštními vlastnostmi.

### **16.5.1 Mechanismus účinku**

Peniciliny téměř neovlivňují metabolismus nemnožících se a nerostoucích bakterií, potlačují však jejich růst a množení ( bakteriostatický efekt). Na proliferující bakterie působí penicilin baktericidně. Buněčná stěna grampozitivních bakterií sestává až z 50% z mukopeptidů (mureinová vrstva), jejichž důležitou složkou je dekapeptid kyseliny N – acetylmuramové. Penicilin interferuje s posledním stupněm syntézy buněčné stěny, který spočívá ve spojení dvou glykopeptidů po předchozím odštěpení terminálního D-alaninového zbytku. Na základě chemické podobnosti penicilinu s D-alanyl-D-alaninem reaguje penicilin s příslušnou transpeptidázou, a tím jí znemožní účast při spojování uvedených glykopeptidů. Poškození buněčné stěny vyvolá



morfologické změny – deformaci a lýzu buněčné stěny. Protože u teplokrevných organismů buněčná stěna neexistuje, lze lehce pochopit metodičnost penicilinů.“<sup>17</sup>

---

<sup>17</sup> Lüllmann, H., Mohr, K., Wehling, M.: Farmakologie a toxikologie, Grada: 2004.

## 17 Tkaniny, použité pro testování

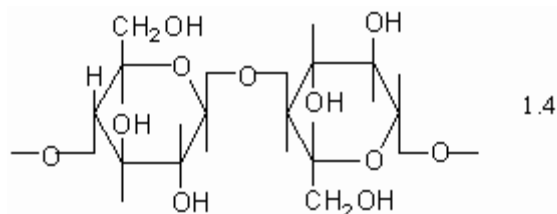
### 17.1 Bavlna

„Bavlna je nejdůležitější ze všech plodin pěstovaných pro výrobu textilního vlákna. Vlákna se získávají z plodu keře bavlníku.

Bavlněná vlákna jsou přítomna ve více než 50 % dnes vyráběných textilií. Kultivace bavlny měla výrazný ekonomický dopad již od doby, kdy byla bavlna poprvé domestikována před přibližně 5000 (možná i 10 000) lety.

V Evropě byla bavlna neznámá až do pozdního středověku. V době průmyslové revoluce se však bavlna stala díky svým fyzikálním vlastnostem velmi důležitou pro textilní průmysl a koncem 19. století představovala přibližně 80 % objemu všech textilních materiálů. V dnešní době si bavlna sice uchovává svoje postavení jako nejvýznamnější zdroj přírodního vlákna, ale její význam byl do značné míry nahraděn vlákny syntetickými. Na dnešní produkci textilií se bavlna podílí zhruba 40 %.<sup>18</sup>

Bavlna je v podstatě celulóza se základní stavební celobinosovou jednotkou



OBRÁZEK 19 CHEMICKÁ PODSTATA BAVLNY

#### 17.1.1 Složení bavlněného vlákna

- celulóza 88 - 96% - hlavní stavební prvek vlákna, zejména v sekundární stěně
- pektiny 0.9 - 1.2% - v primární stěně (odstraní alkalická vyvářka)
- bílkoviny 1.1 - 1.9% - v lumenu se nacházejí zbytky protoplazmy a v primární stěně kyselina asparagová, glutamová, prolin, (většinu odstraní vyvářka)

---

<sup>18</sup> Miller, B., Levinský, O. :Malá encyklopedie textilních materiálů, 1. vyd. Praha: SNTL, 1978.

- vosky 0.3 - 1% - vyšší jednomocné alkoholy Výskyt na povrchu a v primární stěně(odstraní vyvážka)
- organické kyseliny 0.5 - 1% (odstraní vyvážka)
- minerální soli 0.7 - 1.6%
- cukry 0.3% - glukóza, galaktóza, fruktóza, pentóza. Je-li obsah cukru větší, došlo k napadení bakteriemi (bílé kolonie - coryneform bacteria - lepidé cukry)
- 8) ostatní 0.9% - z buněčných stěn bakterií se uvolňuje endotoxin

### 17.1.2 Vlastnosti

„Pro spotřebitele jsou nejdůležitější tyto informace o vlastnostech:

Bavlna má dobrou pevnost v tahu (245–373 mN/tex) a v oděru, která se za mokra dokonce asi o 20 % zvyšuje. Proto se používá s výhodou zejména na výrobky, které jsou v tom směru namáhány a musí se často prát.

Výrobky mají příjemný omak a mohou sát značné množství vlhkosti, na příklad potu.

Jeden z hlavních důvodů vysoké spotřeby bavlny ve světě je velmi výhodný poměr celkových užitných vlastností k ceně produktů.

K nevýhodám patří, že se výrobky z bavlny snadno mačkají, žmolkuje a jen omezeně chrání proti chladu.

Pro výrobce příze je z jakostních ukazatelů nejdůležitější délka neboli stapl vláken a stejnoměrnost staplu. U většiny druhů bavlny platí, že delší vlákna jsou jemnější a i relativně pevnější. Z těch se pak nechají vypřádat jemnější, hodnotnější příze.

Pro volbu správné bavlny se musí také brát v úvahu:

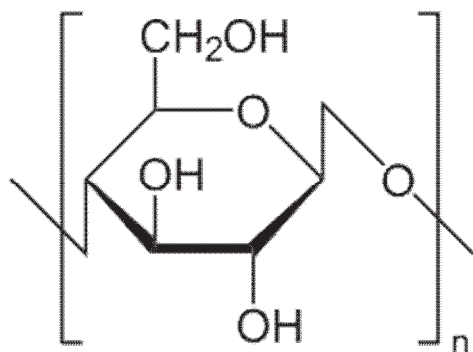
- způsob výroby příze (prstencové, rotorové, mykané, česané)
- další zpracování příze (barvení, bělení, tkaní, pletení atd.).<sup>19</sup>

---

<sup>19</sup> Příručka textilního odborníka, Praha: SNTL, 1981.

## 17.2 Viskóza

Celulóza je základní surovinou pro výrobu viskózy. Je to přírodní polymer, tedy organická sloučenina s molekulovým řetězcem. Viskóza se získává regenerací celulózy.



OBRÁZEK 20 CELUÓZA

Začátkem 20. století přišla první viskózová vlákna na trh jako (podstatně levnější) náhrada za přírodní hedvábí a později za bavlnu a vlnu. V obou světových válkách byl blokován dovoz všech důležitých textilních materiálů do Evropy a viskózová vlákna zůstala jako téměř jediná surovina pro textilní průmysl.

Koncem 60. let minulého století dosáhla světová produkce tohoto vlákna asi 3,5 milionu tun a výroba se drží s menšími odchylkami na této výši dodnes. V roce 2005 byly zaznamenány 3,3 miliony tun vláken, z toho asi 85 % stříže.

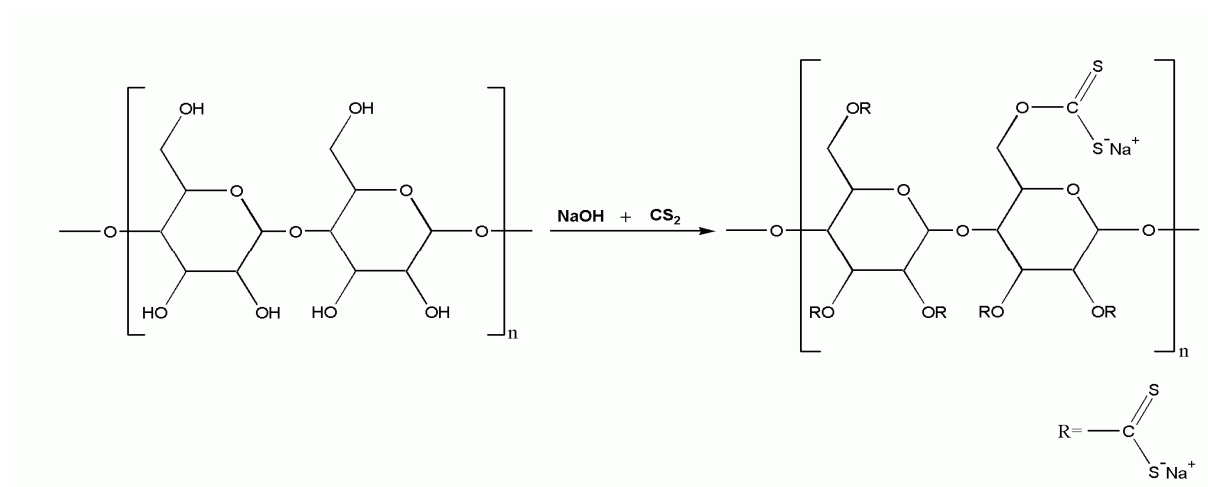
### 17.2.1 Výroba:

Celulóza je sice obsažena v buněčných stěnách každé rostliny, k rentabilní výrobě viskózy se však hodí jen určité druhy dřeva. Buk nebo smrk obsahují jen 6% celulózy, výhodnější je například (rychleji rostoucí) pinie.

K výrobě 1 tuny vlákna je zapotřebí cca. 6 cbm dřeva a 2 tuny chemikálií.

### 17.2.2 Postup výroby (ve zkratce):

Schéma výroby viskózy z celulózy použitím hydroxidu sodného a sulfidu uhličitého.



OBRÁZEK 21 VÝROBA VISKÓZY

Působením hydroxidu sodného na celulozu vznikne alkaliceulosa, ta se sulfiduje sirouhlíkem a vzniká xanthogenát celulózy. Xanthogenát se rozpouští v hydroxydu sodném, vzniká viskóza. (Po zrání a filtraci) se viskóza zvlákňuje v lázni z kyseliny sírové a síranu zinečnatého, vlákenná hmota prochází tryskami (jejichž velikostí je určena jemnost hotového vlákna). Vlákno se v plastickém stavu dlouží, případně chemicky upravuje nebo stříhá na určitou staplovou délku.

Viskózová vlákna se dodávají jako hedvábí nebo stříž, lesklá, matovaná, barvená nebo bělená ve hmotě v jemnostech a délce (u stříže) podle účelu použití. Vedle základního typu vlákna se vyrábí modifikované druhy, např.: vysoce pevné, modalové nebo polynozické.

### 17.2.3 Vlastnosti

„Obyčejné viskózové vlákno dosahuje v suchém stavu jen asi 80-90% pevnosti bavlny a za mokra klesá na polovinu vlastní hodnoty. Modifikované druhy viskózy se vyrábí až s dvojnásobnou pevností oproti bavlně a tato klesá v mokřém stavu jen asi o 25%. Výrobky z viskózového vlákna mají příjemný omak, dobrou savost a (ve směsích s jinými vlákny a v závislosti na struktuře tkaniny) nemačkovost. Při vyšších teplotách se však snadno sráží a nejsou odolné proti biologickým vlivům.

S barvením běžnými prostředky (i ve vlákenné hmotě) a bělením nejsou u viskózy žádné problémy. Za průměrnou bavlnu se často platí dvojnásobek a za vlnu čtyřnásobek ceny obyčejných viskózových vláken.

#### **17.2.4 Použití**

Viskózové hedvábí se používá u všech výrobků, které mají mít vlastnosti podobné přírodnímu hedvábí a nesmějí být příliš drahé. Jsou to zejména tkaniny na halenky, šatovky..

Viskózová stříž se snadno mísí s bavlnou, vlnou nebo syntetickými vlákny. Příze se nejčastěji používá k výrobě tkanin na (krátkodobě) módní vrchní ošacení. Hlavní důvod (mimo nižších nákladů) je líbivý lesk, který viskóza výrobkům dodává. Jestliže však podíl tohoto vlákna ve směsi přesahuje 30 %, kalhoty nebo sako se velmi rychle opotřebí. U modifikovaných druhů viskózových vláken jsou tyto nedostatky téměř zcela odstraněny a i směsi s vyšším obsahem viskózy jsou vhodné pro vrchní ošacení. Oblíbené je také na příklad pletené spodní prádlo ze směsi modal/bavlna v poměru 50/50.<sup>20</sup>

### **17.3 Vlna**

„Vlna je přírodní živočišné vlákno o tloušťce 10- 70µm a přirozené délce 4-40 cm. Získává se vyčesáním nebo epilací zvířecích chlupů a srstí.

Vlnu dělíme na ovčí (ovce domácí), mohérovou (angorská koza), kašmírovou (kašmírská koza), tibetskou (tibetská koza), angorskou (angorský králík), velbloudí (velbloud, ojediněle i dromedár), alpakovou (alpaka), lamí (lama), vikuní (vikuně) a quanakovou (quanaka). Můžeme sem zařadit i některé spřádatelné chlupy – zaječí, králíčí, kozí a hovězí.

Živočišná vlákna (vlna, chlupy, žíně, přírodní hedvábí) se skládají z vysokomolekulárních bílkovin. Podstatou vlny je bílkovina KERATIN (keratoprotein). Ta je vysoce odolná vůči chemickým a biologickým vlivům. Skládá se

---

<sup>20</sup> Miller, B., Levinský, O. :Malá encyklopedie textilních materiálů, 1. vyd. Praha: SNTL, 1978.

z 50% uhlíku, 6-7% vodíku, 23% kyslíku, 16-20% dusíku a 3-5% síry. Vlákno je dobrým elektrickým izolantem, výborně izoluje teplo. Prakticky nestárne. Křehne při 100°C, rozkládá se při 130°C, hoří při 205°C. Odolává slabým i silným kyselinám s výjimkou horké kyseliny sírové. Porušuje se silnými alkáliemi, ve slabých plstí. Odolává organickým rozpouštědlům. Ve studené vodě bobtná, její objem se může zvětšit až o 30%.

Stříháním ovcí se získává vlna ve formě rouna, které tvoří souvislou vrstvu spojenou vlasovým tukem a potem. Stříhá se jednou (v Africe dvakrát) ročně. Hmotnost rouna je 3 -6 kg dle druhu, pohlaví a stáří ovce. Uvnitř rouna je různá jakost vlny.

### **17.3.1 Morfologie vlny**

Vlna má buněčnou strukturu, která se skládá se tří složek:

**Kutikula:** Je to vnější vrstva. Je tvořena plochými šupinkami směřujícími ke špičce vlákna, šupinky se vzájemně překrývají, takže je vidět asi 1/3 jejich celkového povrchu. Jsou přirostlé k tenké bláně. Pod mikroskopem lze rozeznat dva druhy šupin: exokutilu a endokutilu. Jsou různého tvaru a jsou potažené tenkou pokožkou (50 - 100Å)- epikulou, která vlákno chrání vůči vnějšímu prostředí. Epikula je součástí jednotlivých šupinek, ne souvislá blána.

**Kortex:** je hlavní částí vlákna, jeho jádrem. „Je uložen pod ochrannou šupinovou vrstvou. Skládá se z podlouhlých, zploštělých vřetenovitých buněk, makrofibril. Makrofibrily se skládají z mikrofibril, z nichž je několik spojeno vnitřní buněčnou blánou. Mikrofibrily lze ještě rozložit na protofibrily a α-helix. Protofibrily se při maximálním zvětšení pod elektronovým mikroskopem jeví jako perličkovité řetězce. Někteří badatelé je považují za stavební jednotky struktury vlny, za keratinové molekuly. Velikost jednotlivých perliček je asi 100Å, délka fibril vlny je asi 90-100µm. Dvojitý kortex je šroubovitě stočen a poměr mezi orthokortexem a parakortexem určuje zkadeření vlněného vlasu.“

**Dřeň:** je uložena v medule ( dřeňové dutině). Nevyskytuje se u všech vlněných vláken. Najdeme ji jen u těch hlubších. Pod mikroskopem se jeví jako souvislý nebo

přerušovaný pruh odlišné barvy. Dřeň je tvořena svazkem buněk vláknité struktury. Prostory mezi dřeňovými buňkami jsou vyplněny vzduchem.

### **17.3.2 Nečistoty ve vlně**

- ovčí pot ( $KCl$ ,  $K_2SO_4$ ), močovina –odstranění praním
- ovčí tuk (10 -20%) –esterifikované a volné mastné kyseliny, steroly, lano-kyseliny, odstraňování praním. Zpracováním se získá lanolin
- náhodné nečistoty –rostlinné zbytky (řapíky), odstranění karbonizací-prach, trus, dehet, odstranění vypráním, vytřásáním

Vlna: obsahuje typicky 60% vlákna, 5% nečistot, 15% vlhkosti, 10% tuku, 10% potu.

### **17.3.3 Vlastnosti vlny**

Povrch vlákna je šupinovitý. Zvláštní struktura řetězcové molekuly dává vláknu vynikající pružnost a ohebnost (E-modul). Vlna je proto téměř nemačková, ale tím také méně pevná než jiná textilní vlákna a za mokra ztrácí dalších 10–20 % pevnosti. Barvení dvou partií vlny na úplně stejný odstín je sotva možné. Výrobky z vlny se musí chránit proti molům. Vlna je podstatně dražší než běžná textilní vlákna.

### **17.3.4 Chemické složení vlny**

Čistě vlněné vlákno bez tuku, potu, minerálních a rostlinných příměsí obsahuje přibližně: 50% uhlíku, 6 až 7% vodíku, 21 až 24% kyslíku, 15 až 21% dusíku a 3 až 4% síry.

Z chemického hlediska se vlněné vlákno skládá z keratinu, pigmentu a chemicky vázané vlhkosti.<sup>21</sup>

---

<sup>21</sup> Miller, B., Levinský, O. :Malá encyklopedie textilních materiálů, 1. vyd. Praha: SNTL, 1978.



#### 17.4 Porovnání některých fyzikálně- chemických vlastností vlny, viskózy a bavlny.

	<b>Pevnost</b>	<b>Tažnost</b>	<b>E-modul,</b>	
<b>Vlákno</b>	<b>v tahu</b>		<b>Modul elasticity</b>	<b>Navlhavost</b>
	<u>mN/tex</u>	<u>%</u>	<u>N/tex</u>	<u>%</u>
vlna	90–180	25–35	0,34	16–18
bavlna	245–373	13-16	5,03 – 5,30	24 - 27
viskóza	180–350	15–30	5,4	26–28

## **18 SOXHLETOVA EXTRAKCE**

### **18.1 Extrakce rostlinných vzorků**

K extrakci arbutinu jsem použila tyto tři rostliny:

- medvědice lékařská - *Arcylostaphylosis uva-ursi*
- brusnice borůvka – *Vaccinium myrtillus*
- vřes obecný – *Calluna vulgarit*

Tyto bylinky byly od firmy: **Extravit s.r.o.**, Smetanova 966, Lomnice nad Popelkou, 512 51.

K extrakci jsem použila vždy 50 g sušené rostliny. Jako extrakční činidlo jsem použila isopropyl alkohol v objemu 250 ml. Na analytických vahách jsem navážila 50 gramů zkoumaného vzorku. Odměřila jsem 250 ml rozpouštědla a nalila ho do kulové baňky s varnými kuličkami. Poté jsem sestavila extrakční aparaturu. Na elektrický vaříč jsem umístila baňku s rozpouštědlem. Na ni jsem nasadila soxhletův extraktor, do kterého jsem umístila patronu z filtračního papíru, která obsahovala zkoumaný vzorek. Na soxhleta jsem nasadila zpětný chladič a připojila hadice pro vstup a odvod vody. Vzorek jsem nechala projet vždy alespoň třikrát. Poté jsem patronu vyměnila za nové množství vzorku.

## **19 Prostá destilace**

Po vychladnutí zbytku extrakčního činidla v baňce jsem začala s destilací. Připravila jsem si destilační aparaturu skládající se z vaříče, baňky s rozpouštědlem, teploměrem a zpětného chladiče. Oddestilované zbytky rozpouštědla jsem zachytávala do čisté kádinky. Zbýlý roztok v baňce jsem podrobila následně filtraci. Vzorek jsem filtrovala proto, protože jsem se potřebovala zbavit nečistot, kterými byl vzorek znečištěn.

Vzorky jsem také destilovala pomocí vakuové destilace.



*OBRÁZEK 22 VAKUOVÁ DESTILACE EXTRAKTU MEDVĚDICE LÉKAŘSKÉ*

## **20 FILTRACE**

Do nálevky jsem umístila filtrační papír a pomalu po tyčince přilila filtrovaný roztok. Protože byl roztok velmi hustý a mazlavý, filtrace trvala velmi dlouho. Bohužel i po filtraci byl vzorek silně znečištěn. Proto jsem zkusila odstranit přebytečný chlorofyl filtrací přes vápenec.



*OBRÁZEK 23 OECNÝ NÁKRES FILTRACE*

## **20.1 Filtrace přes vápenný filtr**

Malou byretu jsem naplnila roztlučeným vápencem a nalila filtrovaný roztok. Bohužel roztok se přes tuto masu vápence neprofiltraval. Tato metoda se ukázala jako nevhodná.

## **20.2 Odpaření přebytečných látek**

Vzorky po filtraci jsem proto zkusila odpařit ve vodní lázni. Do porcelánové misky jsem nalila zkoumaný vzorek a nechala odpařit přebytečné rozpouštědlo. Po odpaření mi zůstala na dně misky lepkavá až slizovitá hmota. Jednalo se o směs mnoha látek včetně arbutinu, které jsem analyzovala pomocí IČ spektra.

# **21 IČ SPEKTROFOTOMETRIE**

Mnou získané extrakty jsem podrobila IČ spektrofotometrii. Extrakty ze všech tří rostlin jsem porovnávala s čistým arbutinem. Bohužel extrakty nedávaly jasné výsledky, protože směs látek po extrakci je stále velmi složitá a obsahuje velké množství dalších látek (silice, chlorofyl...). To, zda extrakt skutečně obsahuje arbutin, nelze z IR spektra jednoznačně potvrdit, protože obdržené spektrum je součtem spekter všech obsažených látek. Navíc látky mají pravděpodobně podobnou strukturu (extrahovaly se společně stejným rozpouštědlem, a tak musí mít podobnou polaritu, a tudíž i strukturu) a obsahují stejné funkční skupiny, které se liší jenom svým okolím v molekule. V takovém případě nelze jednoznačně říci, jestli je možno pík charakteristické vibrace vazby přiřadit arbutinu nebo jiné látce. Rozdíly ve vlnočtech způsobené pouze odlišným okolím jsou velmi často nepatrné.

Zde jsou vypsány vlnočty výrazných píků ze spektra arbutinu, které by měl extrakt obsahovat, pakliže v něm je arbutin.

1510  $\text{cm}^{-1}$  – pík obsažen je, poměrně průkazně

1215  $\text{cm}^{-1}$  – obsažen neprůkazně

1080  $\text{cm}^{-1}$  – obsažen neprůkazně

1050  $\text{cm}^{-1}$  – obsažen neprůkazně

1025  $\text{cm}^{-1}$  – obsažen neprůkazně

1012  $\text{cm}^{-1}$  – obsažen neprůkazně

897  $\text{cm}^{-1}$  – chybí

890, 830, 778  $\text{cm}^{-1}$  – neprůkazné

Dále viz příloha, graf. Č. 1

Arbutin – jeho označení bylo AB176118 a získala jsem ho od německé firmy **ABCR GmbH & Co. KG**.

## **22 CHROMATOGRRAFIE**

### **22.1 Příprava vzorku**

1 g drcené drogy ( brusnice borůvka + medvědice lékařská) jsem vařila na vodní lázni po dobu 15 minut s 50 ml methanolu. Tato reakce probíhala pod zpětným chladičem. Po ochlazení jsem extrakt zfiltrovala a protřepala s 2 ml 10% roztoku octanu olovnatého a poté znovu zfiltrovala. Filtrát jsem nechala odpařit na vodní lázni na objem cca 10 ml. Nanášela jsem 10 – 20  $\mu\text{l}$ . Jen extrakt z brusnice borůvky jsem nanášela ve čtyřnásobném množství.

### **22.2 Chromatografie**

Používala jsem desku Silufol<sup>R</sup> Kavalier (15x 15 cm). Využila jsem metodu plošné chromatografie na tenké vrstvě. Komora je nasycená, používala jsem ji po 30 minutách od nalití rozpouštědel do komory.

Vyvíjecí soustava byla zvolena:

Octan ethylnatý – methanol- voda (77:13:10). Vyvíjela jsem do vzdálenosti 5 cm od startu, po vyvíjení jsem fólii nechala alespoň 10 minut odvětrat.

### **22.3 Detekce**

K detekci jsem používala roztok A:koncentrovaná kyselina chlorovodíková – ethanol 1:1 a roztok B: Fehlingovo činidlo podle ČsL 3.( vinan sodno – draselný a hydroxid sodný)

Chromatogram jsem nejprve postříkala roztokem A a zahřála po dobu 5 minut na teplotu 110<sup>0</sup>C. Poté jsem jej nastříkala roztokem B a zahřála.

Výsledky jsem srovnávala se standardem čistého arbutinu. Jak je patrné z chromatogramů a tabulky s hodnotami vypočítaných  $R_F$  ( viz. příloha) obě tyto rostliny arbutin skutečně obsahují.

## **Prokázání bakteriostatického účinku arbutinu**

K prokázání tohoto účinku arbutinu jsem zvolila dva druhy bakterií, na kterých jsem vzorek testovala.

Jedná se o bakterie - ESCHERICHIA COLI a STAPHYLOCOCCUS AUREUS. Využívala jsem metodu AATCC Metod 147.

### **22.4 Hodnotící metody**

Tato metoda se používá ke kvantitativnímu hodnocení účinnosti antimikrobiálních prostředků na textilním materiálu a to účinnosti jak proti grampozitivních tak i proti gramnegativních bakterií.

Do Petriho misky s krevním agarem jsem zaočkovala 5 pruhů inokula o délce 60 mm a šířce 4 mm. Vzorek tkaniny jsem namočila ve fyziologickém roztoku. Vzorek tkaniny o rozměru 25x50 mm jsem lehce umístila napříč přes těchto pět inokulačních pruhů tak, aby byl zajištěn kontakt agarů. Inkubační doba byla 18- 24 hodin při teplotě  $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Sledovaly jsme růst pruhů naneseného inokula podél testovaného vzorku. Upravený vzorek jsme porovnávaly s neupraveným vzorkem a s materiálem o známé bakteriostatické aktivitě.

Pouze velikost zóny tlumení růstu bakterií nelze použít pro kvantitativní hodnocení antibakteriální aktivity.

Výpočet =  $(T-D)/2$

W – šířka čisté zóny tlumení růstu bakterií v mm

T – celkový rozměr testovaného vzorku a čisté zóny tlumení růstu bakterií v mm

D – rozměr testovaného vzorku v mm

Inokula – bakterie ve fyziologickém roztoku

c = 8,5 g NaCl/ 1 l vody

koncentrace bakterií =  $10^8$

Columbia krevní agar – firma BIO-RAD

lyofilizované kmeny – CCM

E. Coli: CCM: 2024

St.AURERUS : CCM: 299

ÚED – Česká sbírka mikroorganismů – Masarykova univerzita Brno

referenční kultury mikroorganismů (dle ALE –G18, červen 1996)

Použit 1%, 5% roztok arbutinu a standard

### **1% roztok arbutinu**

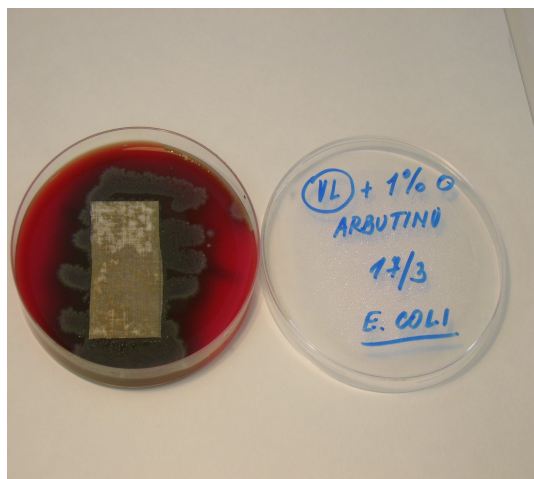
	ESCHERICHIA COLI	STAPHYLOCOCCUS AUREUS
vlna	Nulový inhibiční efekt,  Výrazné zóny útlumu růstu pod tkaninou	Minimální zóna útlumu,  ccc 10% inhibiční efekt
bavlna	Minimální zóna útlumu,  100% inhibiční efekt pod tkaninou	Zóna útlumu 1mm, 100%  inhibiční efekt pod tkaninou
viskóza	Minimální.zóna útlumu  100% inh.efekt pod tkaninou	Minimální zóna útlumu – 0,5 mm, inhibiční efekt pod tkaninou 100%



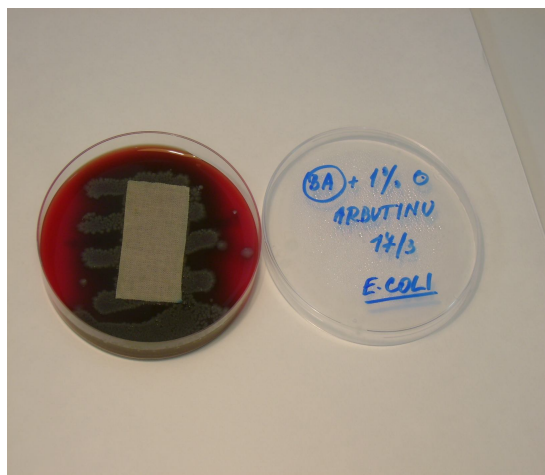
## 5% roztok arbutinu

	ESCHERICHIA COLI	STAPHYLOCOCCUS AUREUS
vlna	Výraznější inhibiční efekt do 0,5 mm, pod tkaninou nulový inhibiční efekt	Nulová zóna útlumu pod tkaninou
bavlna	100% inhibiční efekt pod tkaninou, zóna útlumu cca 1 mm	Zóna útlumu 1 mm, 100% Inhibiční efekt pod tkaninou
viskóza	100% inhibiční efekt pod tkaninou, Zóna útlumu cca 1mm	100% inhibiční efekt pod tkaninou Zóna útlumu 1,5 mm

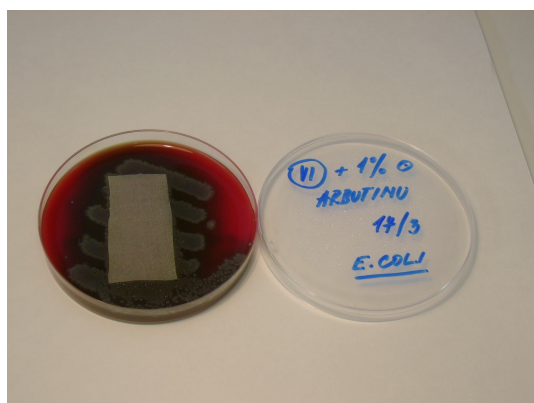
### Výsledky:



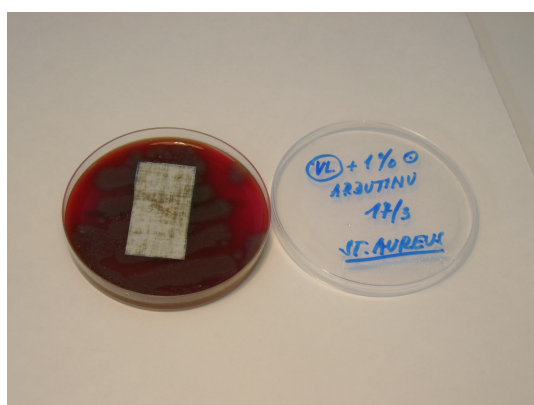
OBRÁZEK 24 E.COLI V 1% ROZTOKU ARBUTINU NA VLNĚ



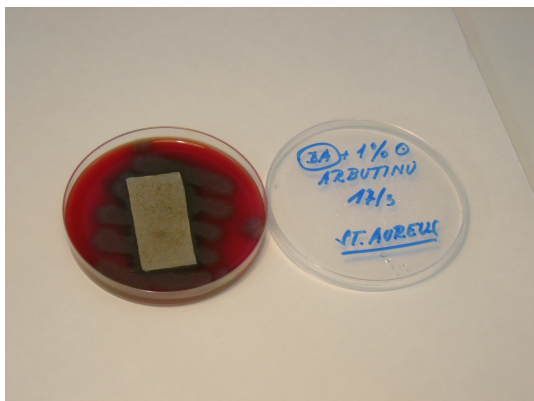
OBRÁZEK 25 E.COLI V 1% ROZTOKU ARBUTINU NA BAVLNĚ



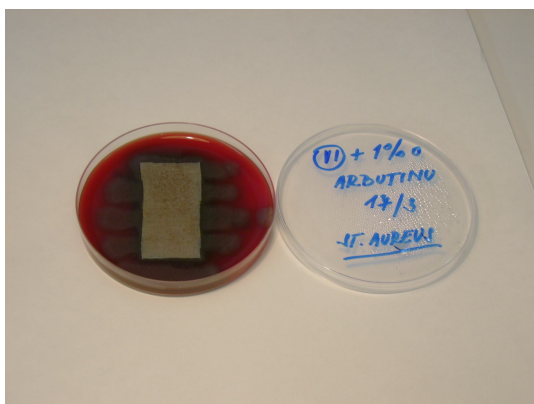
OBRÁZEK 26 E.COLI V 1% ROZTOKU NA VISKÓZE



OBRÁZEK 27 ST.AUREUS V 1% ROZTOKU ARBUTINU NA VLNĚ



OBRÁZEK 28 ST.AUREUS V 1% ROZTOKU ARBUTINU NA BAVLNĚ



OBRÁZEK 29 ST.AUREUS V 1% ROZTOKU ARBUTINU NA VISKÓZE



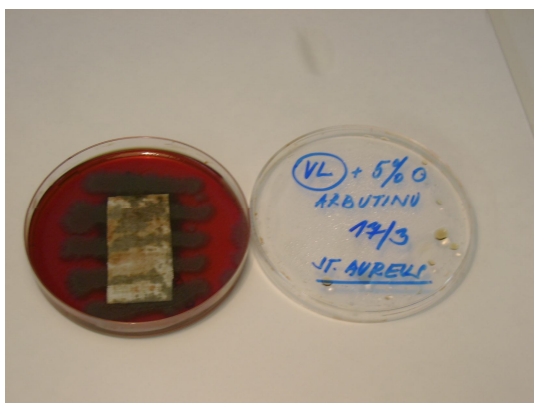
OBRÁZEK 30 E.COLI V 5% ROZTOKU ARBUTINU NA VLNĚ



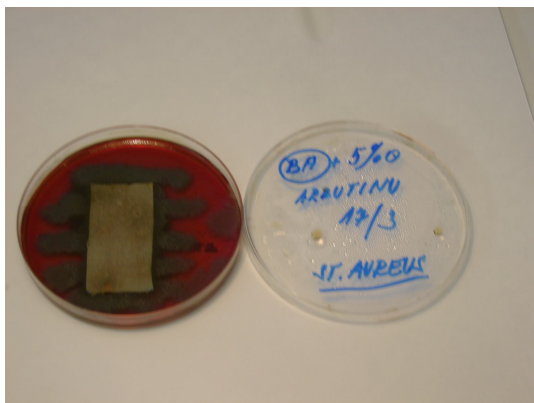
OBRÁZEK 31 E.COLI V 5% ROZTOKU ARBUTINU NA BAVLNĚ



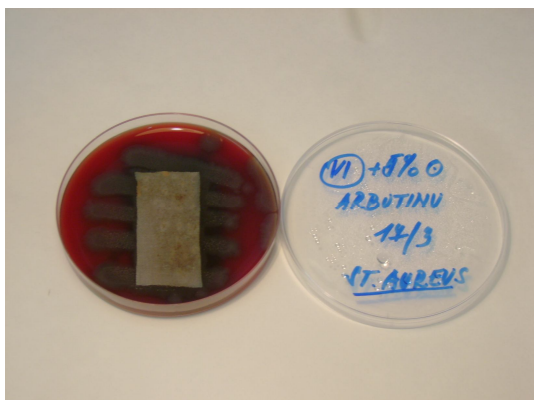
OBRÁZEK 32 E.COLI V 5% ROZTOKU ARBUTINU NA VISKÓZE



OBRÁZEK 33 ST.AUREUS V 5% ROZTOKU ARBUTINU NA VLNĚ



OBRÁZEK 34 ST.AUREUS V 5% ROZTOKU ARBUTINU NA BAVLNĚ



OBRÁZEK 35 ST.AUREUS V 5% ROZTOKU ARBUTINU NA VISKÓZE

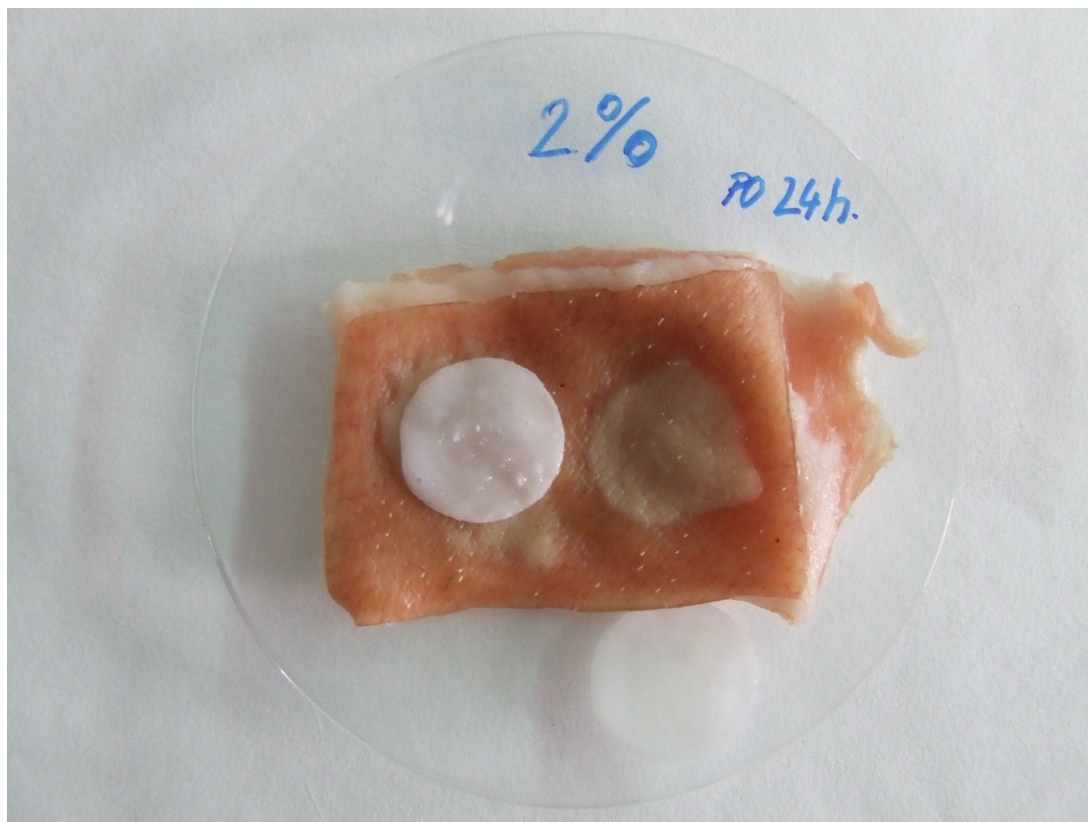
### **Závěr:**

Inhibiční efekt u zóny tlumení růstu u obou testovaných bakterií byl minimální nebo žádný (viz. popis vzorku). Výraznější bakteriostatický efekt byl pozorován pod tkaninou a to zejména u bavlny a viskózy. U vlny byl tento efekt nulový. Z výsledku jednoznačně vyplývá, že nejvhodnějším materiálem je bavlna a viskóza (přírodní rostlinná vlákna), kdežto vlna jako živočišný materiál je naprosto nevhodná. Na bavlně a viskóze jsme jednoznačně prokázaly bakteriostatický efekt arbutinu. Velmi obdobných výsledků bylo dosaženo s použitím vyextrahovaného materiálu.

## 23 Bělicí účinek arbutinu

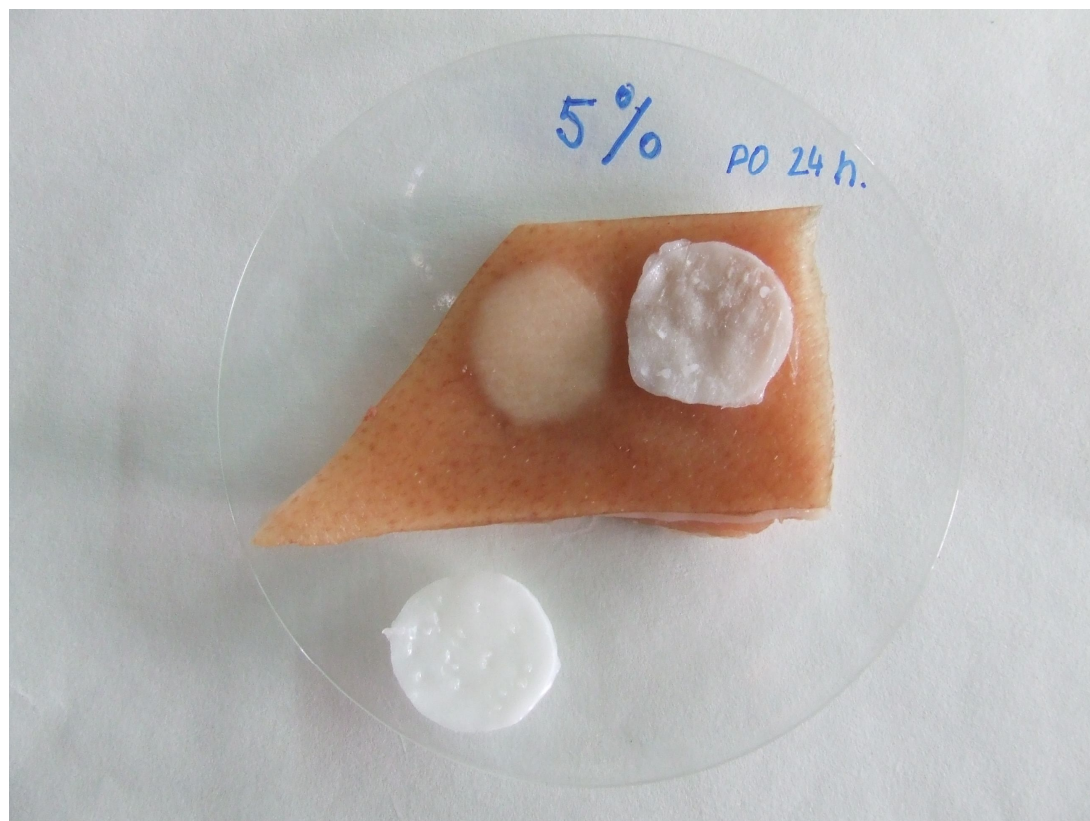
Bělicí účinek arbutinu mě velmi zajímal, protože jsem se dočetla, že arbutin využívá v některých svých přípravcích i světoznámá firma Vichy.. Proto jsme zkusily z našeho zkoumaného arbutinu vytvořit mast a tuto mast nechaly působit na kůži z prasete. Prasečí kůže je totiž velmi podobná kůži lidské. Zakoupila jsem si tedy čerstvý vepřový bůček s kůží a přinesla jej do laboratoře. Z bůčku jsem odkrojila jen kůži a tu položila na hodinové sklo. Nejprve jsem chtěla z arbutinu připravit roztok. Protože jsem chtěla docílit co nejvěrnější podoby používání arbutinu v kosmetice, tak jsem z arbutinu nakonec připravila mast. Připravila jsem si mast s čistým arbutinem o koncentraci 2% a 5%. Standard jsem porovnávala s extraktem získaným z medvědice lékařské, ve kterém je obsah arbutinu v porovnání s dalšími zdroji nejvyšší. Do tohoto mastového základu jsem namočila bavlněnou tkaninu, která se mi jevila z předchozích testů jako nejvhodnější.

### 2% mast po 24 hodinách





**5% mast po 24 hodinách**



## 24 Závěr

Z rostlinných zdrojů jsem izolovala arbutin, což je 4-hydroxyfenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid (Soxhletův extractor). Vždy jsem extrahovala 50 g rostlinného materiálu ( medvědice lékařská, brusnice borůvka, vřes obecný). Jako nejvhodnější rozpouštědlo pro extrakci byl použit isopropylalkohol a prováděla jsem vždy tři cykly. K identifikaci arbutinu jsem použila chromatografii. Využila jsem metodu plošné chromatografie na tenké vrstvě. Využila jsem Silufol<sup>®</sup> od firmy Kavalier. Dle výsledků  $R_F$  (retenční factor) jsem zjistila, že nejvíc arbutinu obsahoval vzorek z medvědice lékařské. Tyto hodnoty jsem porovnávala se standardem čistého arbutinu. U medvědice měl  $R_F$  tyto hodnoty: 0,4011, 0,430, 0,418. Brusnice borůvka měla tyto hodnoty  $R_F$  : 0,4109, 0,4115, 0,4199. Tyto hodnoty by měly vycházet v podstatě u obou látek stejně. Rozdílné hodnoty přisuzuji selhání lidského faktoru při měření vzdálenosti středu skvrn nebo čela chromatogramu. Standard arbutinu  $R_F$  je 0,400.

Další použitou metodou k analýze extraktů byla IČ spektrofotometrie. Tato metoda jednoznačně neprokázala přítomnost arbutinu v extraktu těchto rostlin. A to z následujícího důvodu. Směs po extrakci byla složená z velkého množství složek (silice, chlorofyl, slizové látky a další). Pokoušela jsem se pochopitelně odstranit chlorofyl a další balastní látky z extraktů různými dostupnými metodami, které jsem měla na katedře k dispozici. Při odstraňování chlorofylu jsem použila prostou destilaci, destilaci vakuovou, dále filtraci, filtraci přes vápenný filtr, filtraci přes aktivní uhlí a následné odpaření přebytečného roztoku. Bohužel chlorofyl jsem neodstranila žádnou touto metodou. Z důvodů obsahu obsahu těchto špatně odstranitelných balastních látek se spektra překrývají a nejsou tedy jednoznačně průkazná pro identifikaci arbutinu.

Spektra extraktů jednotlivých rostlin byla porovnána opět se standardem arbutinu, který byl zakoupen u německé firmy ABCR GmbH & Co. KG. Výsledná spektra extraktů sice jednoznačně nepotvrdila přítomnost arbutinu, ale ani jeho přítomnost nevyvrátila. Po konzultaci s Dr. Müllerovou lze pouze konstatovat, že metoda IČ spektrofotometrie, kterou jsem využila pro její dostupnost na katedře chemie, není vhodnou metodou. Pro kvantitativní a kvalitativní analýzu bych při



pokračování identifikace této látky v extraktech doporučila kapalinovou chromatografii.

Antibakteriální ( bakteriocidní a bakteriostatický) účinek arbutinu jsem prokazovala na bakteriích E. Coli a Staphylococcus aureus. E. Coli je gramnegativní bakterie, tyčinkovitého tvaru. Některé typy těchto bakterií tvoří pouzdra a jejich kolonie mají hlenovitý charakter. Staphylococcus aureus je grampozitivní kok. Který vytváří nepravidelné shluky. Lze však spatřit i dvojice nebo zcela krátké řetízky. Tyto bakterie jsou fakultativně anaerobní, nenáročné. St. aureus produkuje řadu enzymů a toxinů, jež se uplatňují v patogenezi stafylokokových onemocnění. K testu jsem použila standardní hodnotící metodu antibakteriální účinnosti. Jedná se o standardně používanou normu AATCC Method 147.

Z tkanin, které jsem použila pro tuto zkoušku (tkaniny byly smočené v extraktu) se jeví jako nejlepší bavlna, nejhorších výsledků (špatná smáčivost a nedostatečná přilnavost k povrchu agaru) dosahovala tkanina vlněná. Myslím si, že důvodem je i to, že bavlněná vlákna jsou rostlinného původu, vlna je vlákno živočišné. Inhibiční efekt u zóny tlumené růstu u obou testovaných bakterií byl minimální nebo žádný. Výraznější bakteriostatický efekt byl pozorován pod tkaninou a to zejména u bavlny. U vlny byl tento efekt téměř nulový. Na bavlně jsem jednoznačně prokázala bakteriostatický účinek arbutinu. Velmi obdobných výsledků bylo dosaženo s použitím vyextrahovaného materiálu.

Velice mě zajímal bělicí účinek arbutinu, protože jsem se dočetla, že arbutin používá ve svých kosmetických přípravcích i světoznámá firma Vichy. Tuto vlastnost arbutinu jsem chtěla dokázat také proto, protože sama mám na obličeji nedostatek pigmentu a dokáži si představit, jak by tento účinek pomohl lidem, kteří mají problém přesně opačný než já. Pro simulaci lidské pokožky jsem použila kůži vepřovou, (protože ta je lidské pokožce nejpodobnější a využívá se při transplantacích).

Připravila jsem mast s obsahem arbutinu. Použila jsem masťový základ bílé vazelíny (vaselina alba) pro její rychlou penetraci rozpuštěných složek do kůže. Bílá vazelína tvoří běžně základ mnoha přípravků používaných v dermatologii a kosmetice. Pro srovnání jsem připravila mast s čistým standardem arbutinu a to v koncentraci 2% mast a 5% mast. Standard byl porovnán s extraktem získaným z medvědice lékařské, ve kterém je obsah arbutinu v porovnání s dalšími rostlinnými zdroji

nejvyšší. Do tohoto masťového základu jsem namočila bavlněnou tkaninu, která se mi jevila jako nejvhodnější. Původně jsem masť chtěla nechat působit týden. Již po 24 hodinách byl však znát výsledek. Na vepřové kůži byl prokazatelně dokázán bělicí účinek arbutinu. Po odstarění bavlněné tkaniny byl znatelný obrovský rozdíl v barvě kůže pod tkaninou a barvy okolní kůže. V koncentraci mastí nebyl žádný prokazatelnější rozdíl. Nepatrně víc vybělila kůži masť, která obsahovala 5% arbutin.

Na závěr lze konstatovat, že přesto, že současná medicína využívá především klasickou farmakologii, rostliny obsahující stovky pozoruhodných látek, na které by se nemělo zapomínat. Současný trend „znovuobjevení“ fytoterapie to pouze potvrzuje.

### **Seznam použité literatury**

Gasparovič, J., Churáček, J.: Papírová a tenkovrstevná chromatografie, SNTL Praha 1981.

Sita, F.: Chromatografická analýza (sbírka předpisů pro aplikaci desek silufol), Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 1989.

Ferenčík, M., Škárka, B.: Biochémia. 1. vyd. Bratislava: Slovák Academic s.r.o., 2000. ISBN 80-88908-58-2.

Vodrážka, Z.: Biochemie. 1. vyd. Praha: Academia, 2002. ISBN 80-200-0768-7.

Šilhánová, L.: Mikrobiologie. 1. vyd. Praha: Academie, 2002. ISBN 80-200-0768-7.

Elliot, W.H., Elliot, D.C.: Biochemistry and Molecular Biology. Oxford: University press, 2001. ISBN 0-19-870045-8.

Westen, T.: Atlas lidského těla, Fortuna Print, Praha 1995.

Rozsypal, S.: Přehled biologie, Scientia, Praha 1998.

McVicarová, J.: Velká kniha o bylinkách, Knižní klub, Praha 1995.

Ody, P.: Velký atlas léčivých rostlin, Martin: Osveta, 1995.

Němcová, I., Čermáková L., Rychlovský, P.: Spektrometrické analytické metody, Praha, Karolinum 2004.

Kaprálek, F.: Základy bakteriologie, Karolinum, Praha 1999.

Lüllmann, H., Mohr, K., Wehling, M.: Farmakologie a toxikologie, Grada: 2004.

Miller, B., Levinský, O.: Malá encyklopedie textilních materiálů, 1. vyd. Praha: SNTL, 1978.

Příručka textilního odborníka, Praha: SNTL, 1981.

Lefnerová, D., Šimunek, J.: Antibiotika (Doplňkový výukový text z mikrobiologie pro studium výživy člověka), Lékařská fakulta MU Brno, Brno 2004.

**Internetové zdroje:**

<http://www.gymfry.cz/~sedlakova/drogy.htm>

[http://cs.wikibooks.org/wiki/P%C5%99%C3%ADrodn%C3%AD\\_l%C3%A1tky/Chemie\\_p%C5%99%C3%ADrodn%C3%ADch\\_l%C3%A1tek/P%C5%99ehled\\_p%C5%99%C3%ADrodn%C3%ADch\\_l%C3%A1tek/Glykosidy](http://cs.wikibooks.org/wiki/P%C5%99%C3%ADrodn%C3%AD_l%C3%A1tky/Chemie_p%C5%99%C3%ADrodn%C3%ADch_l%C3%A1tek/P%C5%99ehled_p%C5%99%C3%ADrodn%C3%ADch_l%C3%A1tek/Glykosidy)

<http://www.vscht.cz/lam/new/bapl2003-01.pdf>

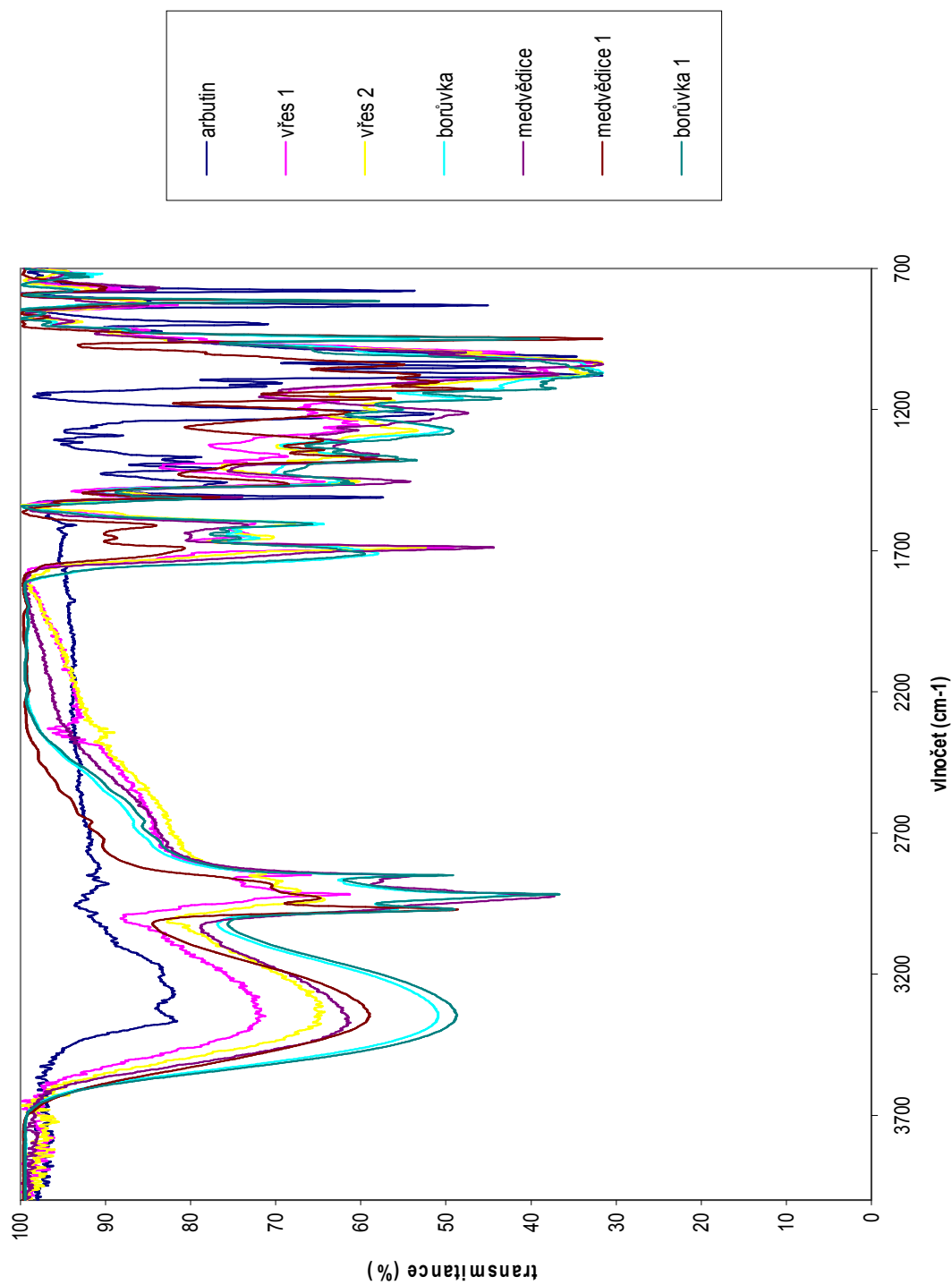
<http://msds.chem.ox.ac.uk/AR/arbutin.html>

[http://www.pharmanews.cz/2007\\_06/site/arbutin.html](http://www.pharmanews.cz/2007_06/site/arbutin.html)

<http://www.vichy.com/cs-cz/sitemap.html>

## Příloha č. 1

### Graf – spektrofotometrie



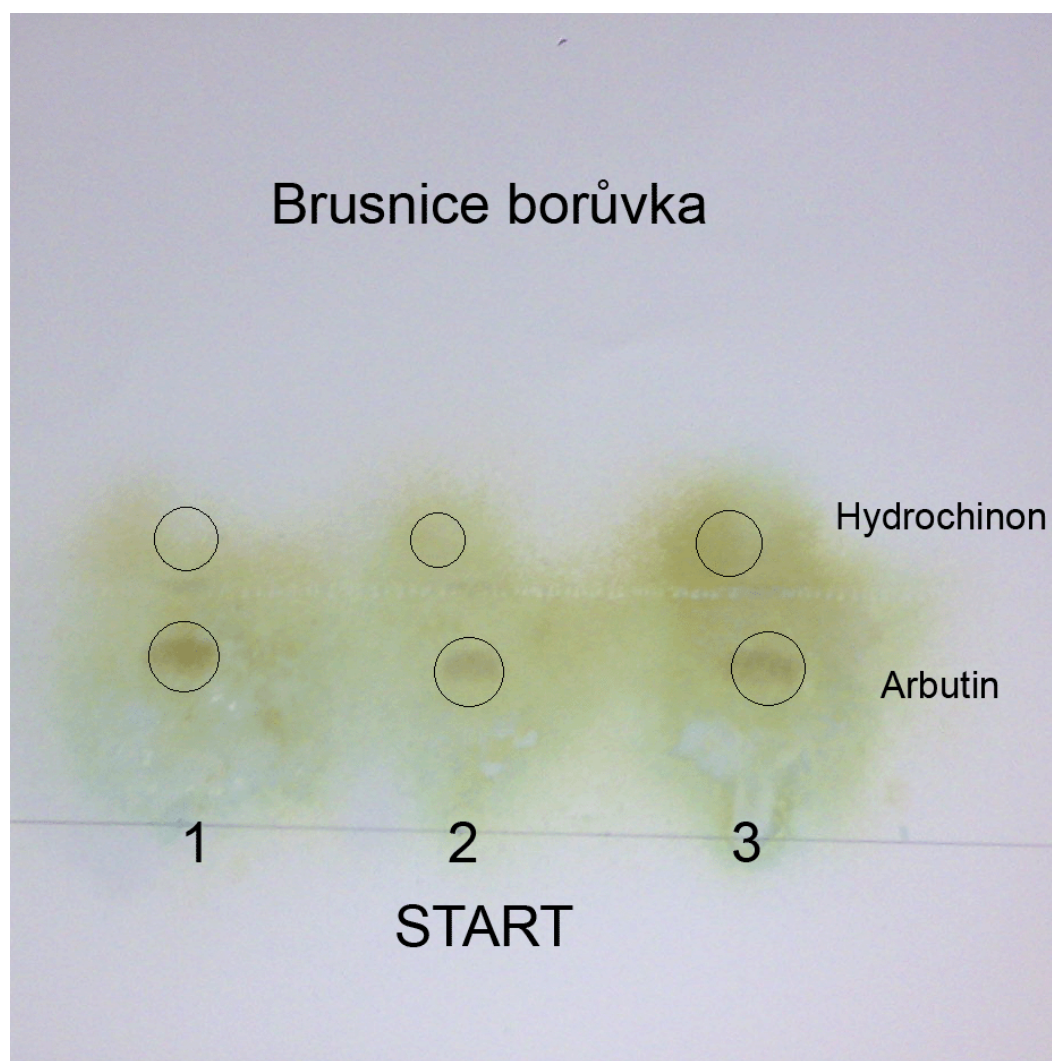
## Příloha č. 2

### Naměřené hodnoty spekter

	arbutin	vřes 1	vřes 2	borůvka	medvědice	medvědice2	borůvka2
4000	98,06876	99,16333	99,29298	99,46824	99,55118	99,685058	99,50825
3999	97,92083	99,21066	99,31769	99,47488	99,46828	99,683086	99,50886
3998	97,87194	99,25789	99,34321	99,4816	99,38537	99,681112	99,50801
3997	97,89762	99,30548	99,1448	99,48888	99,30268	99,680012	99,5068
3996	97,97118	99,30176	98,83982	99,49065	99,20677	99,680796	99,50566
3995	98,04893	99,26323	98,63188	99,4916	99,14209	99,682714	99,50428
3994	98,11806	99,21562	98,6549	99,48908	99,10341	99,68435	99,5031
3993	98,16247	99,17227	98,87703	99,49343	99,05644	99,686837	99,50327
3992	98,13239	99,14688	99,14032	99,50251	98,97681	99,686924	99,50471
3991	97,98837	99,17541	99,28642	99,50661	98,88926	99,686825	99,50583
3990	97,77117	99,28038	99,26831	99,49995	98,86429	99,687388	99,50591
3989	97,60038	99,41146	99,16977	99,48656	98,96102	99,689038	99,50614
3988	97,59103	99,45206	99,13102	99,47494	99,16679	99,690973	99,50788
3987	97,7664	99,31297	99,23557	99,47105	99,39597	99,691612	99,51086
3986	98,03541	99,02028	99,43345	99,47624	99,55042	99,690123	99,51353
3985	98,2477	98,70123	99,56731	99,48714	99,58388	99,686979	99,51433
3984	98,29357	98,49065	99,49881	99,49632	99,52133	99,683143	99,51242
3983	98,18396	98,45632	99,23965	99,49712	99,42959	99,679517	99,50866
3982	98,03435	98,59544	98,95826	99,48886	99,36449	99,677104	99,50592
3981	97,9556	98,85876	98,84444	99,4751	99,33606	99,67669	99,50676
3980	97,95874	99,1445	98,95928	99,45855	99,32176	99,678098	99,51045
3979	97,96589	99,29692	99,19882	99,4418	99,31096	99,680491	99,51337
3978	97,90846	99,1918	99,39478	99,4309	99,32292	99,683472	99,51285
3977	97,804	98,87909	99,45747	99,43224	99,37064	99,687075	99,50944
3976	97,74224	98,61916	99,43359	99,44471	99,42203	99,690668	99,50559
3975	97,80333	98,69971	99,42791	99,45951	99,42195	99,692854	99,5034
3974	97,9837	99,16404	99,47125	99,46944	99,35489	99,692793	99,50369
3973	98,18826	99,72897	99,48209	99,47477	99,266	99,690845	99,50587
3972	98,29103	100	99,36412	99,48018	99,21564	99,687892	99,50813
3971	98,22635	99,80215	99,12908	99,48914	99,22443	99,684922	99,50895
3970	98,04006	99,30663	98,9038	99,50086	99,26149	99,683222	99,50886
3969	97,85767	98,84646	98,81282	99,50894	99,27012	99,683762	99,50969
3968	97,79662	98,62458	98,85375	99,50431	99,20618	99,685991	99,51196
3967	97,89374	98,59018	98,8885	99,48448	99,07181	99,688161	99,51411
3966	98,0913	98,56672	98,76444	99,45937	98,9233	99,689114	99,51447
3965	98,27281	98,4605	98,45837	99,44356	98,83841	99,689034	99,51285
3964	98,32769	98,33054	98,1102	99,44225	98,85754	99,688474	99,50992
3963	98,21628	98,27559	97,89662	99,44826	98,94662	99,687616	99,50653
3962	97,99549	98,30316	97,86109	99,45266	99,01726	99,686655	99,50382
3961	97,77911	98,33851	97,88852	99,45444	98,99162	99,685994	99,50279
3960	97,66104	98,33193	97,87531	99,45905	98,8598	99,685686	99,50313
3959	97,67356	98,2992	97,88653	99,47103	98,6849	99,685501	99,50348
3958	97,79223	98,25937	98,08491	99,48869	98,55997	99,685712	99,50325
3957	97,95427	98,18693	98,49758	99,50301	98,5517	99,686963	99,50318
3956	98,08383	98,06294	98,89886	99,50249	98,66798	99,689024	99,50397
3955	98,12856	97,93901	98,97103	99,48369	98,85966	99,690443	99,50512
3954	98,07942	97,90492	98,59852	99,45695	99,04458	99,689765	99,50565
3953	97,94359	97,99261	97,98196	99,43793	99,14242	99,686767	99,50497
3952	97,71502	98,14216	97,45922	99,43373	99,11276	99,682586	99,50256

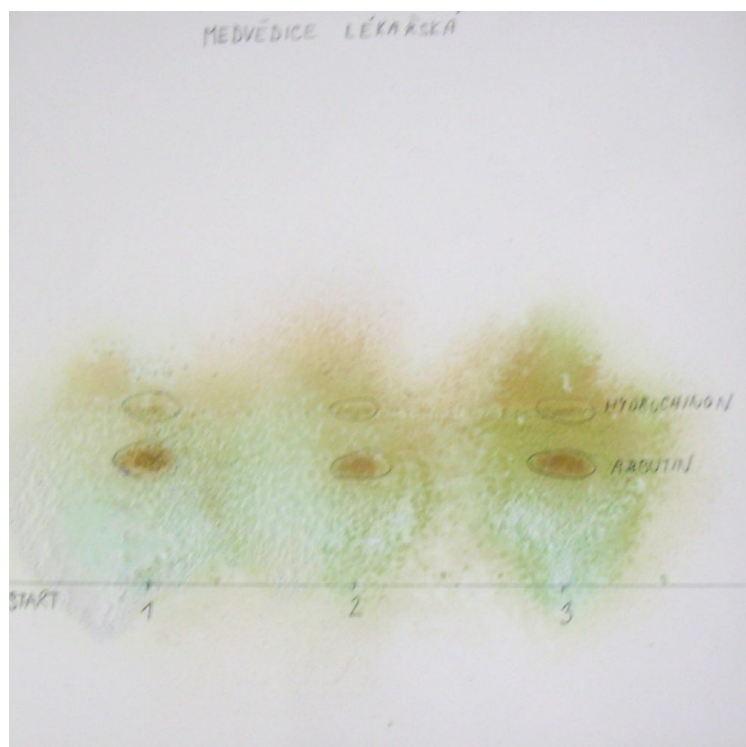
Příloha č. 3.

Chromatogram Brusnice borůvky



## Příloha č. 4

### Chromatogram Medvědice lékařské



Brusnice borůvka – vypočítané hodnoty  $R_F$

	Arbutin Hodnota $R_F$	Hydrochinon Hodnota $R_F$
Vzorek 1	0,4109	0,6712
Vzorek 2	0,4115	0,6702
Vzorek 3	0,4199	0,6710
Standard hodnota $R_F$	0,400	0,670



Medvědice lékařská – vypočítané hodnoty  $R_F$

	Arbutin Hodnota $R_F$	Hydrochinon Hodnota $R_F$
Vzorek 1	0,4011	0,6710
Vzorek 2	0,4130	0,6703
Vzorek 3	0,4180	0,6701
Standard Hodnota $R_F$	0,400	0,670